

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI SALEP  
EKSTRAK KULIT BUAH NAGA (*Hylicereus  
polyrhizuss*) DAN LIDAH BUAYA (*Aloe vera*)  
TERHADAP LUKA INSISI TIKUS PUTIH  
(*Rattus norvegicus*) BERDASARKAN  
EKSPRESI TGF- $\beta$  DAN  
JUMLAH FIBROBLAS**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**NOVI ANDRIANI**  
**135130101111030**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI SALEP  
EKSTRAK KULIT BUAH NAGA (*Hylicereus  
polyrhizuss*) DAN LIDAH BUAYA (*Aloe vera*)  
TERHADAP LUKA INSISI TIKUS PUTIH  
(*Rattus norvegicus*) BERDASARKAN  
EKSPRESI TGF- $\beta$  DAN  
JUMLAH FIBROBLAS**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

**NOVI ANDRIANI  
135130101111030**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

## LEMBAR PENGESAHAN PROPOSAL SKRIPSI

### **PENGARUH PEMBERIAN SALEP EKSTRAK KULIT BUAH NAGA (*Hylicereus polyrizhus*) DAN LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP LUKA INSISI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BERDASARKAN EKSPRESI TGF- $\beta$ DAN JUMLAH FIBROBLAS**

Malang, 23 Januari 2018

Oleh:

**NOVI ANDRIANI**

NIM. 135130101111030

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing Skripsi

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Drh. Djoko Winarso, MS**  
NIP. 19530505198403 2 001

**drh. Dian Vidiastuti, M. Si**  
NIP. 19820207200912 2 003

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES**  
NIP. 196009031988022001

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Novi Andriani

NIM : 135130101111030

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulisan Skripsi berjudul:

**Pengaruh Pemberian Kombinasi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Luka Insisi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Berdasarkan Ekspresi TGF- $\beta$  Dan Jumlah Fibroblas.**

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaksud di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 23 Januari 2018

Yang menyatakan,

(Novi Andriani)

NIM. 135130101111030

## **Pengaruh Pemberian Kombinasi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylicereus Polyrhizus*) Dan Lidah Buaya (*Aloe Vera*) Terhadap Luka Insisi Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Berdasarkan Ekspresi Tgf-B Dan Jumlah Fibroblas**

### **ABSTRAK**

Luka insisi merupakan terputusnya kontinuitas suatu jaringan karena terkena benda tajam. Kulit buah naga dan lidah buaya digunakan sebagai terapi penyembuhan luka karena memiliki kemampuan sebagai anti inflamasi dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi salep ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap jumlah fibroblas dan peningkatan ekspresi TGF- $\beta$  dalam penyembuhan luka insisi. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Hewan model menggunakan tikus *strain wistar* jantan berumur 8-12 minggu, berat badan 150-250 gram dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif (sehat), kontrol positif, kelompok perlakuan bertingkat menggunakan salep kombinasi ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya 5%, 10%, dan 15% pada luka insisi dan diberikan sehari dua kali selama 6 hari. Pemeriksaan jaringan kulit dan pengamatan TGF- $\beta$  menggunakan metode imunohistokimia (IHK) dengan analisis statistik ANOVA satu arah dan dilanjutkan uji Tukey  $\alpha=0,05$ . Hasil penelitian menunjukkan salep kombinasi ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) konsentrasi 15% secara signifikan ( $p<0,05$ ) menurunkan rata-rata jumlah fibroblas ( $13,60 \pm SD$  sel) dan meningkatkan ekspresi TGF- $\beta$  ( $62,85 \pm SD$  sel). Kesimpulan penelitian ini yaitu salep kombinasi ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) konsentrasi 15% mampu mendukung proses penyembuhan luka.

**Kata kunci:** Luka insisi, kulit buah naga, lidah buaya, TGF- $\beta$ , fibroblas.

# **The Effect Combination Dragon Fruit Peel (*Hylicereus polyrhizus*) And Aloe vera (*Aloe vera*) Extract Oinment On Rat (*Rattus norvegicus*) Incision Wound Based On Tgf- $\beta$ And Fibroblas Expression**

## **ABSTRACT**

An incision wound is discontinuity of a tissue caused by a sharp object. The dragon fruit peel and aloe vera is used for wound healing as an anti inflammatory and antibacterials. This study aimed evaluated to of the dragon fruit peel (*Hylicereus polyrhizus*) and aloe vera (*Aloe vera*) extract to increased fibroblas and TGF- $\beta$  expression in wound healing incision. This research used experimental Randomized Design, male rat *strain-wistar* 8-12 weeks old, 150-250 grams bodyweight, which are divided into 5 treatment groups: the negative control group, positive control group, treatment groups (5%, 10%, 15% of the combination ointment topically that given twice a day for six days. Skin tissue and TGF- $\beta$  was evaluated using Immunohistochemistry (IHC) with one-way ANOVA statistical analysis and Tukey test  $\alpha=5\%$ . The results showed that the combination ointment significantly ( $p < 0.05$ ) increase fibroblas (13,60  $\pm$ SD cell) and expression of TGF- $\beta$  (62,85  $\pm$ SD cell). The conclusion of this study is combination dragon fruit peel (*Hylicereus polyrhizus*) and aloe vera (*Aloe vera*) extract ointment on 15% concentration may also have contributed fowards wound healing.

**Key Words:** incised wound, dragon fruit peel, aloe vera, TGF- $\beta$ , fibroblas



## KATA PENGANTAR

Ucapan alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT karena atas limpahan rahmat, hidayah dan pertolongan-Nyalah sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Kombinasi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Kesembuhan Luka Insisi Hewan Model Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Berdasarkan Ekspresi TGF- $\beta$  Dan Jumlah Fibroblas”** dengan lancar.

Selama penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH UB.
2. Dr. Drh. Djoko Winarso, MS selaku dosen pembimbing satu atas bimbingan, saran, kesabaran, fasilitas serta waktu yang telah diberikan selama ini.
3. drh. Dian Vidiastuti, M.Si selaku dosen pembimbing dua atas bimbingan, saran, kesabaran, fasilitas serta waktu yang telah diberikan selama ini.
4. Jajaran Dekanat, Dosen, dan Staf Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya atas dorongan, semangat, dan fasilitas yang diberikan.
5. Kedua orang tua yang selalu memberikan semangat dan dukungan.
6. Kakak saya Doni Deadi Subaktiar S.Kep.,Ns. yang selalu memberikan dukungan.
7. Tim pejuang Sarjana Kedokteran Hewan Zulfika Gayoh K, Ganes Septian A.B, Anang Masrur, dan Abdul Haris Anafi atas dukungan, motivasi, kesabaran, kasih sayang, bantuan, dan semangat selama ini.
8. Sahabat-sahabat Monalisa yang selalu memberikan semangat dan dukungan.

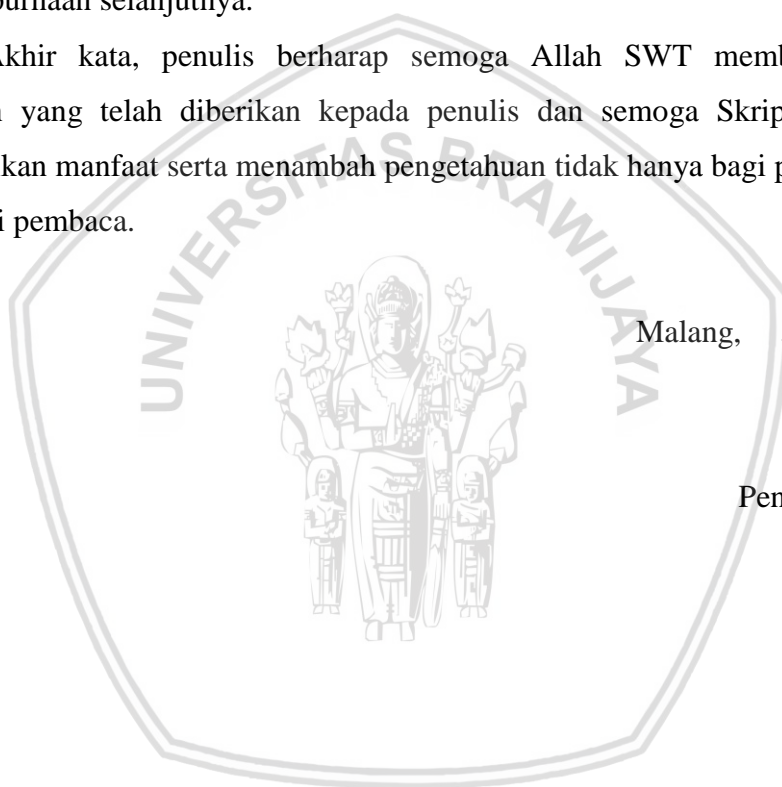
9. Sahabat B-TIS Minor yang selalu bersama-sama baik suka dan duka selama berada di bangku kuliah yang selalu memberikan dukungan dan semangat.
10. Serta kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan laporan ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari kata sempurna, maka saran dan kritik yang membangun dari semua pihak sangat diharapkan demi penyempurnaan selanjutnya.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan semoga Skripsi ini dapat memberikan manfaat serta menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, Januari 2018

Penulis





## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>LEMBAR PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG</b> .....	xii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Batasan Masalah Penelitian .....	4
1.4 Tujuan Penelitian .....	4
1.5 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Luka .....	6
2.2 Jaringan Kulit .....	8
2.3 Patogenesis Luka Insisi .....	10
2.4 Penyembuhan Luka .....	13
2.4.1 Fase Inflamasi .....	13
2.4.2 Fase Proliferasi .....	14
2.4.3 Fase Pematangan .....	15
2.5 <i>Transforming Growth Factor-Beta</i> .....	15
2.6 Buah Naga .....	17
2.6.1 Klasifikasi .....	18
2.6.2 Kandungan dan Manfaat Buah Naga .....	19
2.7 Lidah Buaya ( <i>Aloe vera</i> ) .....	23
2.7.1 Klasifikasi .....	23
2.7.2 Kandungan dan Manfaat Buah Naga .....	24
2.8 Salep Sebagai Obat Topikal .....	26
2.9 Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	26
<b>BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....	29
3.1 Kerangka Konsep Penelitian .....	29
3.2 Hipotesis Penelitian .....	33
<b>BAB IV. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	35
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	35
4.2 Alat dan Bahan .....	36
4.3 Rancangan Penelitian .....	37
4.4 Variabel Penelitian .....	37

4.5 Tahapan Penelitian .....	37
4.6 Prosedur Kerja.....	37
4.6.1 Preparasi Hewan Coba .....	37
4.6.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Naga dan Lidah Buaya ....	38
4.6.3 Pembuatan Salep Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga Dan Lidah Buaya.....	39
4.6.4 Perlakuan Sayatan Pada Hewan Coba.....	40
4.6.5 Pemberian Terapi Kefir Kombinasi Lidah Buaya.....	40
4.6.6 Pengambilan dan Pembuatan Preparat Kulit.....	40
4.6.7 Ekspresi TGF- $\beta$ dengan Metode Imunohistokimia (IHK) ..	42
4.6.8 Tahap Perhitungan Jumlah Fibroblas .....	43
4.6.9 Analisis Data .....	43
<b>BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	45
5.1 Pengaruh Salep Ekstrak Kulit Buah Naga Terhadap Jumlah Fibroblas Kulit Tikus Pasca Luka Insi .....	47
5.2 Ekspresi TGF- $\beta$ .....	53
<b>BAB VI. PENUTUP</b> .....	60
6.1 Kesimpulan.....	60
6.2 Saran .....	60
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	61
<b>LAMPIRAN</b> .....	68

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1 Variabel Penelitian .....	37
5.1 Jumlah fibroblas Pada Kelompok Tikus Perlakuan .....	47
5.1 Ekspresi TGF- $\beta$ .....	55



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Lapisan Epidermis.....	9
2.2 Lapisan Kulit.....	10
2.3 Morfologi Buah Naga .....	18
2.4 Morfologi Lidah Buaya (Aloe vera) .....	25
2.5 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) strain Wistar .....	27
3.1 Kerangka Konsep Penelitian .....	29
5.1 Gambaran Makroskopis Jaringan Kulit Tikus .....	45
5.2 Gambaran Mikroskopis Perkembangan Fibroblas Jaringan Kulit Tikus ...	52
5.3 Ekspresi TGF- $\beta$ Jaringan Kulit Tikus Dengan Pewarnaan Imunohistokimia.....	57



## DAFTAR SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

%	: Persen
g	: Gram
mg	: Miligram
ml	: Mililiter
mm	: Milimeter
µg	: Mikrogram
°C	: Derajat Celcius
ADP	: Adenosin Diphosphate
ANOVA	: Analysis of Variance
ECM	: Extracellular Matrix
HE	: Hematoksilin-Eosin
IL-1	: Interleukin 1
IL-2	: Interleukin 2
IFN-γ	: Interferon
IL-1α	: Interleukin 1 alpha
IHK	: Imunohistokimia
NaCl	: Natrium Klorida
ROS	: Reactive Oxygen Species
ADP	: Adenosin Di Phosphate
TNFα	: Tumor Necrosis Factor Alpha
TGFβ	: Transforming Growth Factor
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
FGF	: Fibroblas Growth Factor
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
EGF	: Epidermal Growth Factor
KGF	: Keratinocyte Growth Factor
MMP	: Matrix Metalloprotenase
GAG	: Glycosaminoglycon
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
WHO	: World Health Organization
Fe	: Ferrum
Ig	: Immunoglobulin
Ph	: Potential of Hydrogen
PBS	: Phosphate Buffer Saline
Mµ	: Mikrometer
FBS	: Fetal Bovine Serum
SA HRP	: Strep Avidin Horse Radish Peroxidase
DAB	: Diamano Benxidine
HIF-1α	: Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Luka adalah rusaknya sebagian jaringan tubuh dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan temperatur, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan. Efek luka seperti hilangnya seluruh atau sebagian fungsi organ, pendarahan dan pembekuan darah, kontaminasi bakteri, dan kematian sel (Sjamsuhidayat dan Jong, 2005). Luka insisi (*Incised wounds*), terjadi karena teriris oleh instrumen yang tajam, misal akibat pembedahan. Luka mengakibatkan kehilangan kesinambungan dari epitel dengan atau tanpa kehilangan dari jaringan penunjangnya (Potter and Perry, 2006).

Penyembuhan luka adalah proses tubuh untuk memperbaiki kerusakan jaringan agar dapat berfungsi kembali. Fase penyembuhan luka meliputi fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling (Rahayu dkk., 2013). Fibroblas memiliki peran penting dalam fase proliferasi. Fibroblas menghasilkan bahan dasar serat kolagen yang akan mempertautkan tepi luka dan akan membentuk jaringan ikat yang baru, memberikan kekuatan serta integritas pada semua luka sehingga menghasilkan proses penyembuhan yang baik. Fibroblas akan segera menghilang setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular akan menurun melalui proses apoptosis (Putra dkk., 2013).

*Transforming growth factor- $\beta$*  (*TGF- $\beta$* ) adalah sitokin polipeptida multifungsional. *TGF- $\beta$*  sebagai stimulator kuat sekresi kolagen oleh fibroblas. Pada inflamasi kronis *TGF- $\beta$*  terlibat dalam pertumbuhan fibrosis, memodulasi sintesis dan aktivasi metaloproteinase, suatu enzim yang berfungsi untuk

degradasi komponen *extracellular matrix* (ECM). Proses tersebut terjadi di dalam luka, sementara pada permukaan luka terjadi restorasi integritas epitel (WHO, 2005).

Pengobatan yang dilakukan untuk mengobati luka insisi, pada umumnya menggunakan *povidone iodine* sebagai antiseptik (Dewiyanti dkk., 2009). Penggunaan topikal *povidone iodine* untuk penyembuhan luka memiliki efek samping seperti iritasi kulit dan alergi kulit (kemerahan dan gatal) dan penggunaan berlebihan dapat menghambat proses granulasi luka (Haris, 2009).

Kulit buah naga memiliki berbagai manfaat untuk kesehatan seperti dalam penyembuhan luka, iritasi kulit, proses regenerasi sel, menyuburkan rambut, sebagai analgesik, antibakteri, antiviral, antifungal, dan antiinflamasi, memperkuat imunitas tubuh, anti oksidan bahkan sebagai antikanker (Choo, 2011). Buah naga merah yang dikonsumsi masyarakat luas umumnya adalah daging buah, sehingga kulit buah sering terbuang (Saati, 2010). Menurut Putri, dkk (2015) kulit buah naga mengandung vitamin C, vitamin E, vitamin A, alkaloid, terpenoid, flavonoid, tiamin, niasin, piridoksin, kobalamin, fenolik, karoten, fitoalbumin, dan aktivitas antioksidan kulit buah naga lebih besar dibandingkan aktivitas antioksidan pada daging buahnya. Menurut Pranata dkk., (2013) kulit buah naga merah memiliki zat antioksidan untuk menangkal radikal bebas sehingga dapat menurunkan kerusakan jaringan kulit dan meningkatkan sitokin antiinflamatori *TGF- $\beta$* .

Lidah buaya (*Aloe vera*) mengandung zat aktif yang bermanfaat dalam mempercepat penyembuhan luka karena mengandung vitamin E dan vitamin C



berperan sebagai *growth factor*. Growth factor adalah zat alami yang mampu merangsang pertumbuhan sel, proliferasi, penyembuhan, dan diferensiasi sel. *Growth factor* berkontribusi sebagai penyembuhan luka dengan memproduksi kolagen lebih banyak, dan meningkatkan reepitelisasi epidermis yang akan meningkatkan proses *remodelling* pada luka dan mengisi daerah luka. Bekerja secara sinergis, lidah buaya mempertahankan suasana *moist* pada luka dan pada saat yang sama membawa oksigen untuk penetrasi ke dalam luka, meningkatkan regenerasi sel (Atik dan Iwan, 2010).

Asam salisilat dalam lidah buaya mencegah biosintesis prostaglandin dari asam arakhidonat. Asam arakhidonat akan membentuk prostaglandin pada jalur COX (siklooksigenase). Prostaglandin memainkan peran integral dalam mengatur peradangan dan reaksi kekebalan tubuh. Prostaglandin sebagai mediator inflamasi dan nyeri juga menyebabkan vasodilatasi dan edema (pembengkakan) (Davis, 2000).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi salep buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) sebagai bahan obat alternatif kesembuhan luka insisi hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) berdasarkan ekspresi *TGF- $\beta$*  dan jumlah fibroblas.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian kombinasi salep buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dapat meningkatkan ekspresi *TGF- $\beta$*  pada luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

2. Apakah pemberian kombinasi salep buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dapat menurunkan jumlah fibroblas pada luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

### 1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah yang sudah disebutkan di atas, maka penelitian ini dibatasi pada :

- a. Hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 3 minggu dengan berat badan 250-500 gram.
- b. Kulit buah naga dan lidah buaya yang digunakan berasal dari kota Batu dan diuji determinasi di UPT Materica Medica kota Batu.
- c. Bentuk sediaan obat menggunakan salep dengan penambahan vaselin album dan cera alba. Salep diberikan pada luka sebanyak 50 g, sehari sekali selama 6 hari
- d. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah fibroblas dengan pewarnaan HE dan ekspresi *TGF- $\beta$*  dengan imunostokia.

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pemberian kombinasi salep buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dapat meningkatkan ekspresi *TGF- $\beta$*  pada luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pemberian kombinasi salep buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dapat menurunkan jumlah fibroblas pada luka insisi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Memberikan manfaat kepada pembaca tentang pemanfaatan obat alternatif salep kombinasi kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap kesembuhan luka insisi.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Luka

Luka adalah kerusakan fisik sebagai akibat dari terbukanya atau hancurnya kulit yang menyebabkan ketidakseimbangan fungsi dan anatomi kulit normal (Nagori *and* Solanki, 2011). Luka juga didefinisikan sebagai gangguan dari seluler, anatomi, dan fungsi yang berkelanjutan dari jaringan hidup yang disebabkan oleh trauma fisik, kimia, suhu, mikroba, atau imunologi yang mengenai jaringan mengakibatkan kerusakan integritas epitel kulit diikuti dengan terganggunya struktur dan fungsi dari jaringan normal (Thakur *et al.*, 2011 ; Nagori, 2011 ; Soni *and* Singhai, 2012).

Menurut Kartika (2015) berdasarkan proses penyembuhan, luka dapat dikategorikan menjadi tiga yaitu:

- 1) Penyembuhan primer (*healing by primary intention*) yaitu tepi luka bisa menyatu kembali, permukaan bersih, tidak ada jaringan yang hilang. Biasanya terjadi setelah suatu insisi. Penyembuhan luka berlangsung dari internal ke eksternal.
- 2) Penyembuhan sekunder (*healing by secondary intention*) yaitu sebagian jaringan hilang, proses penyembuhan berlangsung mulai dari pembentukan jaringan granulasi di dasar luka dan sekitarnya.
- 3) *Delayed primary healing (tertiary healing)* yaitu penyembuhan luka berlangsung lambat, sering disertai infeksi.

Klasifikasi luka berdasarkan tingkat kontaminasi menurut (Potter and Perry, 2006) adalah:

- 1) *Clean Wounds* (luka bersih) yaitu luka yang tidak terjadi infeksi dan kontaminasi dari saluran pernafasan, pencernaan, genital, dan saluran kemih. Kemungkinan terjadinya infeksi luka sekitar 1%-5%.
- 2) *Clean-contaminated Wounds* (luka bersih terkontaminasi) merupakan luka bedah di saluran respirasi, pencernaan, genital dalam kondisi terkontrol, kontaminasi tidak selalu terjadi, kemungkinan timbulnya infeksi luka adalah 3%-11%.
- 3) *Contaminated Wounds* (luka terkontaminasi) merupakan luka terbuka, *fresh*, luka akibat kecelakaan dan operasi dengan teknik aseptik namun terjadi kontaminasi dari saluran cerna; pada kategori ini juga termasuk insisi akut, inflamasi non purulen. Kemungkinan infeksi luka 10% - 17%.
- 4) *Dirty of infected Wounds* (luka kotor atau infeksi) yaitu terdapatnya mikroorganisme pada luka.

Klasifikasi berdasarkan lama penyembuhan, luka dibedakan menjadi akut dan kronis. Luka dikatakan akut jika penyembuhan terjadi dalam 2-3 minggu sedangkan luka kronis adalah luka yang tidak ada tanda-tanda sembuh dalam jangka lebih dari 4-6 minggu. Luka insisi bisa dikategorikan luka akut jika proses penyembuhan berlangsung sesuai dengan proses penyembuhan normal, jika penyembuhan terlambat (*delayed healing*) atau menunjukkan tanda-tanda infeksi dikategorikan kronis (Kartika, 2015).

Menurut Nagori *and* Solanki (2011), klasifikasi luka berdasarkan penyebab dasar dari luka meliputi:

- 1) Luka terbuka terjadi perdarahan yang terlihat secara kasat mata dimana darah keluar dari tubuh. Luka terbuka meliputi luka insisi, luka laserasi, abrasi atau luka dangkal, luka tusukan kecil, luka penetrasi, dan luka tembak.
- 2) Luka tertutup adanya darah keluar dari sistem sirkulasi darah tetapi tersisa di dalam tubuh dan terlihat dalam bentuk luka memar. Luka tertutup meliputi benturan atau luka memar, hematoma, dan cedera yang keras.

## 2.2 Jaringan kulit

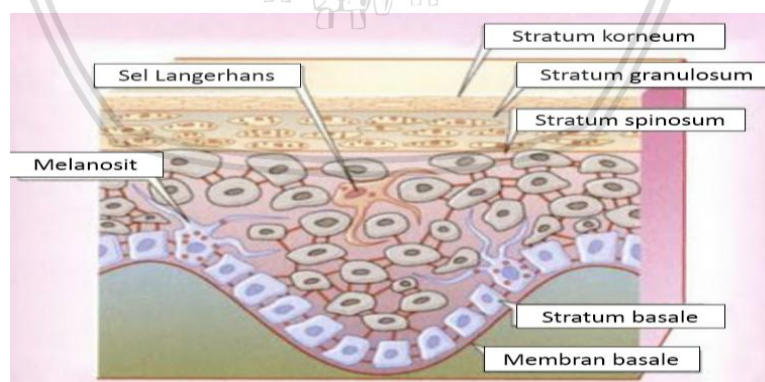
Kulit adalah suatu jaringan pembungkus seluruh permukaan luar tubuh. Struktur kulit tersusun atas 2 lapis yaitu lapisan epidermis dan dermis (**Gambar 2.1**).

### 1) Epidermis

Epidermis adalah lapisan terluar kulit yang tipis dan nonvaskuler yang terdiri dari epitel berlapis kompleks, bertanduk (kornifikasi), mengandung sel melanosit, langerhans dan sel markel. Fungsi utamanya sebagai proteksi barier, organisasi sel, pembelahan dan mobilisasi sel, pigmentasi (melanosit) dan pengenalan alergen (sel langerhans) (Perdanakusuma, 2007). Epidermis memiliki melanosit yang akan memberikan warna pada kulit. Fungsi lapisan epidermis melindungi masuknya bakteri, toksin, untuk keseimbangan cairan yaitu menghindari pengeluaran cairan secara berlebihan (Suriadi, 2004).

Menurut Junqueira *and* Carneiro (2005) lapisan epidermis terdiri atas 5 lapisan sel penghasil keratin (keratinosit) yaitu :

- a. Stratum basal (stratum germinativum), terdiri atas selapis sel kuboid atau silindris basofilik terletak di atas lamina basalis pada perbatasan epidermis-dermis.
- b. Stratum spinosum, terdiri atas sel-sel kuboid dengan inti ditengah.
- c. Stratum granulosum, terdiri atas 3–5 lapis sel poligonal gepeng berisi granul basofilik kasar pada sitoplasma.
- d. Stratum lusidum, tampak lebih jelas pada kulit tebal, lapisan ini bersifat translusens dan terdiri atas lapisan tipis sel epidermis eosinofilik yang sangat gepeng,
- e. Stratum korneum, lapisan ini terdiri atas 15–20 lapis sel gepeng berkeratin tanpa inti dengan sitoplasma yang dipenuhi skleroprotein filamentosa birefringen, yakni keratin.



**Gambar 2.1** Lapisan Epidermis Kulit (Brown *and* Burns, 2005).

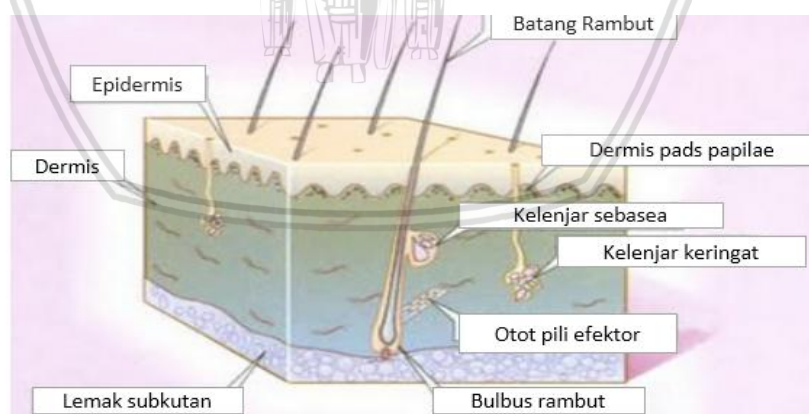
## 2) Dermis

Dermis atau Korium adalah lapisan tebal jaringan ikat tempat melekatnya epidermis (**Gambar 2.2**). Dermis terletak dibawah epidermis dan dibatasi oleh



lamina basalis (Perdanakusuma, 2007). Menurut Suriadi (2004), lapisan dermis lebih tebal daripada lapisan epidermis. Fungsi utama sebagai penyokong epidermis. Lapisan dermis strukturnya lebih kompleks dan terdapat dua lapisan bagian *superficial papillary* dan bagian *reticular dermis*.

Kulit berperan pada pengaturan suhu dan keseimbangan cairan elektrolit. Temperatur kulit dikontrol dengan dilatasi atau kontriksi pembuluh darah kulit. Bila temperatur meningkat terjadi vasodilatasi pembuluh darah, kemudian tubuh akan mengurangi temperatur dengan melepas panas dari kulit dengan cara mengirim sinyal kimia yang dapat meningkatkan aliran darah di kulit. Pada temperatur yang menurun, pembuluh darah aktif akan vasokonstriksi yang kemudian akan mempertahankan panas (Perdanakusuma, 2007).



**Gambar 2.2** Lapisan Kulit (Brown dan Burns, 2005).

### 2.3 Patogenesa

Insisi yang dilakukan pada daerah punggung mengakibatkan terjadinya luka sehingga menyebabkan perdarahan dari pembuluh darah yang rusak. Kerusakan jaringan akan menyebabkan keluarnya platelet yang mengakibatkan terjadinya proses hemostasis. Hemostasis adalah proses penghentian darah dari pembuluh darah yang rusak dengan melibatkan tiga langkah utama yaitu spasme vaskular, pembentukan sumbat trombosit dan koagulasi darah (Sherwood, 2011).

Langkah utama proses hemostasis yaitu mekanisme vasokonstriksi atau spasme vaskular. Spasme vaskular mengurangi aliran darah melalui pembuluh darah yang cidera. Pembuluh darah yang terpotong atau robek akan segera berkonstriksi. Mekanisme spasme vaskular ini memperlambat darah mengalir melalui defek dan memperkecil kehilangan darah. Permukaan endotel yang saling berhadapan juga saling menekan vasokonstriksi sehingga permukaan tersebut menjadi lekat satu sama lain dan semakin memperbaiki pembuluh darah yang rusak. Tindakan fisik ini tidak cukup untuk mencegah secara sempurna pengeluaran darah melalui pembuluh darah yang rusak (Sherwood, 2011).

Langkah kedua adalah pembentukan sumbat trombosit. Rusaknya endotel pembuluh darah akan menyebabkan trombosit teraktivasi dan melekat pada kolagen sehingga membentuk sumbat trombosit pada pembuluh darah yang rusak. Ketika trombosit mulai menggumpal maka akan mengeluarkan zat-zat kimia seperti ADP, yang menyebabkan permukaan trombosit darah yang terdapat disekitar menjadi lekat sehingga trombosit tersebut melekat ke lapisan pertama gumpalan trombosit. Trombosit-trombosit yang melekat ini akan melepaskan lebih banyak ADP dan menyebabkan perlekatan antar trombosit melalui

mekanisme umpan balik positif. Langkah terakhir adalah koagulasi darah. Koagulasi darah dimulai pada saat proses agregasi trombosit yang mengeluarkan platelet faktor 3, platelet faktor 3 akan mengaktifkan protombin yang kemudian akan mengaktifkan trombin. Trombin merupakan komponen jenjang pembekuan yang akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin dan akan mengaktifkan faktor XIII. Faktor XIII akan mengubah fibrin jala longgar menjadi jala stabil (Sherwood, 2011).

Proses hemostatis telah terjadi kemudian proses inflamasi. Respon seluler, ciri-ciri fase inflamasi adalah masuknya leukosit daerah luka. Sel neutrofil akan muncul pada tepi insisi setelah luka terjadi dan bermigrasi menuju bekuan fibrin. Sel basal pada tepi irisan epidermis mulai menunjukkan peningkatan aktivitas mitosis kemudian dalam waktu 24-48 jam, sel epitel dari kedua tepi irisan mulai bermigrasi dan berpoliferasi disepanjang dermis. Neutrofil sebagian besar telah digantikan oleh makrofag dan jaringan granulasi pada hari ke 3. Serat kolagen pada tepi insisi telah muncul, namun mengarah vertikal dan tidak menjembatani insisi. Proliferasi sel epitel akan berlanjut menghasilkan suatu lapisan epidermis penutup yang menebal (Robbins, 2004).

Neovaskularisasi mencapai puncaknya pada hari ke-5, hal ini dikarenakan jaringan granulasi telah mengisi ruang insisi. Serabut kolagen menjadi lebih banyak dan mulai menjembatani insisi. Epidermis mengembalikan ketebalan normalnya karena diferensiasi sel permukaan menghasilkan epidermis matur yang disertai dengan keratinisasi permukaan. Selama minggu kedua, terjadi penumpukan kolagen di dalam jaringan parut bekas insisi dan regresi saluran

pembuluh darah dan pada akhirnya bulan pertama, jaringan parut bekas insisi terdiri dari jaringan ikat yang sebagian besar tanpa disertai sel radang dan ditutupi oleh suatu epidermis yang normal. Lapisan dermis yang terinsisi akan menghilang permanen dan kekuatan regang pada luka meningkat bersama perjalanan waktu (Robbin, 2004).

## 2.4 Penyembuhan luka

Penyembuhan luka adalah suatu usaha untuk memperbaiki kerusakan jaringan akibat adanya cedera. Hasil penyembuhan luka yang terganggu seperti luka akut yang penanganannya terlambat dan luka kronis pada umumnya luka tersebut gagal untuk maju ke tahapan penyembuhan luka yang normal. Luka terjadi akan mengakibatkan efek seperti hilangnya seluruh atau sebagian fungsi organ dan lainnya berupa respon stres simpatis, perdarahan dan pembekuan darah, kontaminasi bakteri, kematian sel (Chrysman dkk., 2010).

Proses setelah luka yang terjadi adalah proses penyembuhan luka yang dapat dibagi dalam tiga fase yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan *remodelling* jaringan. Luka perlu penanganan yang tepat dan benar agar tidak terjadi komplikasi misalnya infeksi, *hematoma*, serosa, perdarahan, *dihiscence* (terbukanya lapisan-lapisan luka parsial atau total), *eviceration* (ekstrusi alat viscera dari tubuh, khususnya melalui suatu insisi bedah), dan keloid (Chrysman dkk., 2010).

### 2.4.1 Fase inflamasi

Inflamasi merupakan reaksi awal bila tubuh terkena luka. Fase ini terjadi segera setelah cedera dan dapat berlangsung selama 4-6 hari (Broughton *et al.*,

2006). Reaksi awal terjadinya inflamasi yaitu adanya vasodilatasi lokal, keluarnya darah dan cairan menuju ruangan ekstraseluler, dan terhambatnya aliran limfatik. Hal ini mengakibatkan timbulnya tanda-tanda utama untuk terjadinya suatu inflamasi. Respon inflamasi akut ini biasanya antara 24-48 jam dan dapat menetap diatas dua minggu untuk beberapa kasus. Fase ini merupakan tahap awal yang alami untuk mengangkat jaringan debris dan mencegah infeksi yang invasif (Gurtner, 2007).

#### **2.4.2 Fase proliferasi**

Fase proliferasi berlangsung umumnya mulai hari ke-4. Luka insisi *partial thickness*, migrasi keratinosit yang berada pada tepi luka telah mulai bekerja beberapa jam pasca trauma, menginduksi terjadinya reepitalisasi yang biasanya menutup luka dalam 5-7 hari. Membran basalis terbentuk antara lapisan epidermis dan dermis setelah reepitalisasi. Pembentukan kembali dermis dibantu oleh proses angiogenesis. Fase ini matriks fibrin yang di dominasi oleh platelet dan makrofag digantikan oleh jaringan granulasi yang terususun dari kumpulan fibroblas, makrofag, dan sel endotel yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskuler (Gurtner, 2007).

Fibroblas memiliki peran yang sangat penting dalam fase proliferasi. Fibroblas memproduksi matriks ekstraseluler yang akan mengisi kavitas luka dan untuk migrasi keratinosit. Makrofag memproduksi *growth factor* seperti PDGF dan TGF- $\beta$  yang menginduksi fibroblas untuk berproliferasi, migrasi dan membentuk matriks ekstraseluler. Fibroblas mencerna matriks fibrin dan menggantikannya dengan GAG dengan bantuan MMP. Matriks ekstraseluler akan

digantikan oleh kolagen tipe III yang juga diproduksi oleh fibroblas. Kolagen tipe III akan digantikan oleh kolagen tipe I pada fase maturasi (Schulz, 2007). Fibroblas akan segera menghilang setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular akan menurun melalui proses apoptosis. Fase proliferasi mulai berhenti dan fase *remodelling* mulai berjalan (Gurter, 2007).

#### **2.4.3 Fase maturasi**

Fase ketiga adalah fase *remodelling*. Selama fase ini jaringan baru yang terbentuk akan disusun seperti jaringan asalnya. Fase maturasi ini berlangsung mulai hari ke-21 hingga 1 tahun. Fase ini dimulai setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitalisasi telah berhenti. Perubahan yang terjadi adalah penurunan kepadatan sel dan vaskularisasi, pembuangan matriks temporer yang berlebihan dan penataan serat kolagen sepanjang garis luka untuk meningkatkan kekuatan jaringan baru. Fase akhir penyembuhan luka ini dapat berlangsung selama bertahun-tahun (Gurtner, 2007).

#### **2.5 Transforming Growth Factor-Beta**

*Transforming Growth Factor-Beta (TGF- $\beta$ )* adalah sitokin polipeptida multifungsional yang disekresikan oleh berbagai sel dalam tubuh termasuk makrofag. Ekspresi TGF- $\beta$  dipicu oleh adanya infeksi atau keadaan hipoksia dan iskemia jaringan atau sel. Sitokin ini mempunyai efek immunomodulator multipel pada berbagai sel target, menghambat proliferasi sel T dan sel B, menjadi antagonis sitokin proinflamasi seperti tumor nekrosis faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) dan interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) serta menghambat induksi IL-1 dan IL-2 sehingga sel-sel tidak responsif terhadap sitokin ini (WHO, 2005). Menurut Layla (2015) TGF- $\beta$



akan terekspresi dalam jumlah yang normal pada keadaan sembuh atau tidak terjadi luka.

TGF- $\beta$  dapat berperan sebagai sitokin proinflamasi atau sitokin TGF- $\beta$  anti inflamasi. Pada fase akut, TGF- $\beta$  menginduksi sekresi IL-1 $\alpha$  dan TNF $\alpha$  yang akan mengontrol perjalanan penyakit serta menurunkan produksi radikal bebas, menghambat ekspresi reseptor (WHO, 2005). In vivo TGF- $\beta$  menghambat adhesi sel T dan neutrofil pada sel-sel endothelia, menghambat aktivitas makrofag dan mengatur ekspresi MHC kelas II pada makrofag. TGF- $\beta$  dapat mengatur ekspresi molekul adhesi, menjadi kemotatik yang kuat bagi sel lain yang terlibat dalam proses imun (Xiao *et al.*, 2000). Menurut Jayadi dan Krismi (2015), TGF- $\beta$  sebagai sitokin proinflamasi berarti TGF- $\beta$  sebagai pencetus fase inflamasi dengan menarik neutrofil dan makrofag serta fibroblas masuk ke dalam area luka. Menurut Soeroso (2007), TGF- $\beta$  sebagai sitokin anti inflamasi adalah sebagai deaktivasi dalam produksi makrofag, menghambat proliferasi sel T, menghambat regulasi IFN- $\gamma$  dan pengeluaran IL-1.

TGF- $\beta$  aktif berperan dalam proses penyembuhan, menstimulasi daya kemotaksis fibroblas, inhibisi produksi kolagen dan fibronectin, menghambat degradasi kolagen karena peningkatan atau penurunan inhibitor protease. Pada inflamasi kronis TGF- $\beta$  terlibat dalam pertumbuhan fibrosis. Pada deposisi matriks ekstraseluler, sintesis kolagen diperbanyak oleh faktor pertumbuhan dan sitokin yaitu TGF- $\beta$ , yang diproduksi oleh leukosit dan limfosit pada saat sintesis kolagen. Pada proses *remodelling* faktor pertumbuhan seperti PDGF, FGF, TGF- $\beta$  dan IL 1 akan menstimulasi sintesis kolagen serta jaringan ikat lain yang



selanjutnya memodulasi sintesis kolagen serta jaringan ikat lain yang berfungsi untuk degradasi ECM merupakan *remodelling* kerangka jaringan ikat, dan struktur merupakan gambaran pokok penyembuhan luka pada inflamasi kronis. Metaloproteinase terdiri atas interstitial kolegenase dan gelatinase, diproduksi oleh beberapa macam sel yaitu fibroblas, makrofag, neutrofil, sel sinovial dan beberapa sel epitel (WHO, 2005).

Proses ini terjadi dalam luka, sementara itu pada permukaan luka juga terjadi restorasi integritas epitel. Reepitelisasi ini terjadi beberapa jam setelah luka. Sel epitel tubuh dari tepi luka, bermigrasi ke jaringan ikat yang masih hidup. Epidermis segera mendekati tepi luka dan menebal dalam 24 jam setelah luka. Sel basal marginal pada tepi luka menjadi longgar ikatannya dari dermis di dekatnya, membesar dan bermigrasi ke permukaan luka yang sudah mulai terisi matriks sebelumnya. Sel basal pada daerah dekat luka mengalami pembelahan cepat dan bermigrasi dengan pergerakan menyilang satu dengan yang lain sampai defek yang terjadi tertutup semua. Ketika sudah terbentuk jembatan, sel epitel yang bermigrasi berubah bentuk menjadi lebih kolumnar dan mengikat aktifitas mitotiknya. Proses reepitelisasi sempurna terjadi kurang dari 48 jam pada luka insisi yang tepinya saling berdekatan dan memerlukan waktu lebih panjang pada luka dengan defek lebar. Stimulator reepitelisasi ini belum diketahui secara lengkap. Faktor-faktor yang diduga berperan adalah EGF, TGF- $\beta$ , dan PDGF (WHO, 2005).

## 2.6 Buah Naga

Buah naga tergolong buah batu yang berdaging dan berarir. Bentuk buah bulat agak memanjang atau bulat agak lonjong (**Gambar 2.3**). Kulit buah ada yang berwarna merah menyala, merah gelap, dan kuning, tergantung dari jenisnya. Kulit buah agak tebal, yaitu sekitar 3-4 mm. Kulit buah naga dihiasi dengan jumbai-jumbai menyerupai sisik-sisik ular naga. Daging buah naga berserat sangat halus dan di dalamnya bertebaran biji-biji yang sangat banyak dan berukuran sangat kecil ada yang berwarna merah, putih, dan hitam, tergantung jenisnya serta bertekstur lunak dan rasanya manis sedikit masam (Cahyono, 2009).



**Gambar 2.3** Morfologi Buah Naga Merah (Sumber: Winarsih, 2007)

### 2.6.1 Klasifikasi

Menurut Panjuantiningrum (2009), kedudukan taksonomi buah naga merah adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Superdivisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Subkelas : Hemamelidae

Ordo : Caryophyllales

Famili : Cactaceae

Genus : *Hylocereus*

Spesies : *Hylocereus polyrhizus*

### 2.6.2 Kandungan dan manfaat buah naga

Buah naga kaya vitamin dan mineral yang dapat membantu meningkatkan daya tahan tubuh dan sangat baik untuk sistem peredaran darah. Penelitian juga menunjukkan buah ini dapat mencegah kanker usus, selain mengandung kolesterol yang rendah dalam darah pada waktu yang sama menurunkan kadar lemak dalam tubuh. Buah naga merah mengandung protein yang mampu mengurangi metabolisme badan dan menjaga kesehatan jantung, serta (mencegah kanker usus, kencing manis, dan diet), karotene (kesehatan mata, menguatkan otak, dan mencegah penyakit mata), dan kalsium (menguatkan tulang). Buah naga mengandung zat besi untuk menambah darah, vitamin B1, vitamin B2 (menambah nafsu makan), vitamin B3 (menurunkan kadar kolesterol), dan vitamin C (Panjuantiningrum 2009).

Kulit buah naga dapat dijadikan sebagai obat herbal alami yang dapat bermanfaat sebagai antioksidan. Kadar antioksidan di dalam kulit buah naga lebih besar dibandingkan daging buah. Kulit buah naga mengandung vitamin C, vitamin E, vitamin A, alkaloid, flavonoid, tiamin, niasin, piridoksin, kobalamin, fenolik, karoten, dan fitoalbumin (Cahyono, 2009 ; Jafaar *et al.*, 2009).

a. Vitamin C

Aktifitas antioksidan pada kulit buah naga lebih besar dibandingkan daging buahnya, sehingga berpotensi untuk dikembangkan menjadi sumber antioksidan alami. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nurliyana, *et al* (2010) yang menyatakan bahwa di dalam 1 mg/ml kulit buah naga merah mampu menghambat  $83,48 \pm 1,02\%$  radikal bebas. Pada penelitian yang pernah dilakukan, vitamin C dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Flavonoid dan saponin diketahui memiliki antioksidan dapat mengobati kerusakan pada kulit.

Vitamin C pada kulit buah naga mempunyai peran penting dalam sintesis kolagen, tanpa adanya vitamin C maka kolagen muda yang diekskresikan ke daerah luka oleh fibroblas akan berkurang. Oksidasi vitamin C dengan kofaktor  $Fe^{2+}$  menyebabkan keluarnya sejumlah anion radikal oksigen superoksida ( $O_2^-$ ). Ketika produksi  $O_2^-$  melebihi jumlah oksigen yang tersedia, sintesis kolagen akan meningkat. Kekurangan besi akan mengganggu proses penyembuhan luka karena secara signifikan besi yang rendah menyebabkan anemia dan mengurangi jumlah pengantar oksigen ke jaringan. Vitamin E pada kulit buah naga yaitu sebagai antioksidan disini berfungsi untuk menetralkan oksigen radikal bebas guna mencegah kerusakan jaringan (Zakaria dkk., 2000).

Penelitian menunjukkan bahwa kulit buah naga membantu dalam penyerapan vitamin C dan menambah aktifitas biologisnya. Kulit buah naga dapat melarutkan senyawa larut air serta zat larut lipid, dapat melalui membran sel stratum korneum untuk membantu berbagai bahan dalam menembus kulit. Aktivitas biologis buah naga dapat bertambah bahkan bersinergi dengan banyak agen dalam meningkatkan efek terapi (Sabirin, 2007).

Vitamin C adalah nutrisi dan vitamin yang larut dalam air dan penting untuk kehidupan serta untuk menjaga kesehatan dikenal dengan nama Asam askorbat, penting untuk biosintesis kolagen. Vitamin C sebagai antioksidan bekerja mendonor elektron dengan cara memindahkan satu elektron ke senyawa logam Cu dan menyumbangkan elektron ke dalam reaksi biokimia intraseluler dan ekstraseluler (Zakaria dkk., 2000).

b. Vitamin E

Vitamin E atau  $\alpha$ -tokoferol merupakan antioksidan yang larut dalam lemak. Vitamin ini banyak terdapat dalam membran eritrosit dan lipoprotein plasma. Vitamin E sebagai antioksidan berfungsi mendonor non hidrogen yang mampu mengubah radikal peroksil (hasil peroksidasi lipid) menjadi radikal tokoferol yang kurang reaktif, sehingga tidak mampu merusak rantai asam lemak. Reaksi antioksidatif vitamin E berlangsung secara non enzimatis, prosesnya jauh lebih cepat apabila dibandingkan dengan antioksidan enzimatis. Vitamin E akan menetralkan berbagai radikal lainnya, seperti radikal oksigen singlet, alkosil, peroksinitrit, antigen dioksida, ozon dan superoksida memiliki sifat mudah dicerna sehingga dapat memperbaiki kerja sistem imun. Pada individu yang berstatus gizi

baik, terutama kadar gizi yang bersifat antioksidan seperti vitamin A, vitamin C, dan vitamin E dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh (Zakaria dkk., 2000).

c. Flavonoid

Senyawa flavonoid telah terbukti mempunyai efek biologis yang sangat kuat, sebagai antioksidan dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang produksi nitrit oksida yang dapat melebarkan (relaksasi) pembuluh darah, antinflamasi, dan antivirus. Sifat antiradikal flavonoid terutama terhadap radikal hidroksil, anion superoksida, radikal peroksil, serta memiliki afinitas yang sangat kuat terhadap ion Fe (Furhman dan Aviram, 2002).

Kandungan dari flavonoid pada buah naga yaitu menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol (Seifried, 2008). Mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Sabirin, 2007).

Menurut pendapat Kumalaningsih (2016), antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Terdapat tiga macam mekanisme kerja antioksidan pada radikal bebas yaitu (Kumalaningsih, 2016):



1. Antioksidan primer yang mampu mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Contohnya adalah superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase, dan katalase yang mengubah radikal bebas superoksida menjadi molekul air.
2. Antioksidan sekunder berperan mengikat radikal bebas dan mencegah aplikasi senyawa radikal. Beberapa contohnya adalah vitamin A, vitamin C, vitamin E dan senyawa fitokimia.
3. Antioksidan tersier berperan dalam mekanisme biomolekuler, seperti memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas.

## **2.7 Lidah buaya (*Aloe vera*)**

Lidah buaya (*Aloe vera* L) merupakan tanaman asli Afrika, yang memiliki ciri fisik daun berdaging tebal, sisi daun berduri, panjang mengecil pada ujungnya, berwarna hijau, dan daging daun berlendir. Pada awalnya lidah buaya sebagai tanaman hias yang ditanam di pekarangan rumah. Lidah buaya tumbuh subur di daerah yang berhawa panas dan terbuka dengan kondisi tanah yang gembur dan kaya bahan organik. Pembudidayaan lidah buaya tergolong sangat mudah dan tidak memerlukan biaya dan perawatan yang besar. Hal ini akan mendorong dan pertimbangan untuk menjadikan lidah buaya sebagai bahan baku makanan (Sudarto, 1997).

### **2.7.1 Klasifikasi lidah buaya (*Aloe vera*)**

Klasifikasi ilmiah atau taksonomi dari lidah buaya adalah sebagai berikut (Sudarto, 1997) :



Kingdom : Plantae

Division : Spermatophyta

Class : Monocotyledoneae

Ordo : Liliflorae

Family : Liliceae

Genus : Aloe

Species : *Aloe vera*

### 2.7.2 Kandungan dan manfaat lidah buaya (*Aloe vera*)

Lidah buaya (*Aloe vera*, Latin: *Aloe barbadensis milleer*) adalah sejenis tumbuhan yang digunakan sebagai penyembuh luka dan untuk perawatan kulit. Berdasarkan hasil penelitian, tanaman ini kaya akan kandungan seperti enzim, asam amino, mineral, vitamin, polisakarida dan komponen lain yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Lidah buaya berkhasiat sebagai anti inflamasi, anti jamur, anti bakteri, dan membantu proses regenerasi sel. Lidah buaya juga dapat menurunkan kadar gula dalam darah bagi penderita diabetes, mengontrol tekanan darah, menstimulasi kekebalan tubuh terhadap serangan penyakit kanker, serta sebagai nutrisi pendukung penyakit kanker (Jatnika dan Saptonongsih, 2009).

Lidah buaya mengandung asam amino seperti *phenylalanine* dan *tryptophane* yang memiliki aktifitas anti inflamasi. Asam salisilat dalam lidah buaya mencegah biosintesis prostaglandin dari asam arakhidonat. Prostaglandin memainkan peran integral dalam mengatur peradangan dan reaksi kekebalan

tubuh (**Gambar 2.4**). Lidah buaya dapat mempengaruhi kedua sistem ini dengan memblokir sintesis prostaglandin dengan memodulasi produksi limfosit dan makrofag. Lidah buaya dapat bertindak sebagai stimulator penyembuhan luka dan produksi antibodi (Davis, 2000).

Vitamin E dan vitamin C dalam lidah buaya penting untuk regenerasi sel. Vitamin C berperan penting sebagai *growth factor* berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connecting tissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, dimana akan meningkatkan proses *remodelling* pada luka dan mengisi daerah luka. Lidah buaya mempertahankan suasana *moist* pada luka dan membawa oksigen untuk penetrasi ke dalam luka, menambah regenerasi sel. Vitamin E berfungsi sebagai imunostimulator yang meningkatkan respon imun Th1 sebagai pertahanan terhadap patogen intraseluler seperti virus, bakteri, dan parasit yang berfungsi sebagai antibiotik dan dapat memicu pengeluaran faktor pertumbuhan *Keratinocyte Growth Factor* (KGF) sehingga sangat berperan dalam memicu proses reepitalisasi yang lebih cepat disertai dengan menghambat terjadinya proses infeksi (Rahayu dkk., 2013). Lidah buaya juga mengandung asam amino arginin, asparagin, asam aspartat, alanin, serin, valin, glutamat, treonin, glisin, lisin, prolin, hisudin, leusin dan isoleusin (Purwaningsih, 2009).



**Gambar 2.4** Morfologi Lidah Buaya (*Aloe vera*) (Sumber: Purwatiningsih, 2009).

## 2.8 Salep Sebagai Obat Topikal

Obat topikal merupakan salah satu aplikasi obat dengan menggunakan salah satu formulasi pada kulit yang bertujuan untuk mengobati penyakit kulit tertentu pada kulit atau penyakit sistemik yang bermanifestasi pada kulit. (Sharma, 2015). Salep merupakan sediaan setengah padat yang mudah dioleskan dan dapat digunakan pada kulit. Salep berbahan hidrokarbon memiliki efek sebagai emolien, efek oklusi, dan mampu bertahan pada permukaan kulit dalam waktu yang lama tanpa mengering (Wyati *et al.*, 2001).

Berdasarkan komposisi dasar salep dapat digolongkan sebagai berikut (Anief, 1993):

1. Dasar salep hidrokarbon
2. Dasar salep serap
3. Dasar salep dapat dicuci dengan air

4. Dasar salep yang dapat larut dalam air yaitu terdiri dari PEG atau campuran PEG

Penelitian ini menggunakan jenis salep hidrokarbon karena salep ini dimaksudkan untuk memperpanjang kontak bahan obat dengan kulit dan bertindak sebagai pembalut (penutup luka).

## 2.9 Tikus (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan percobaan pada berbagai penelitian. Tikus putih memiliki ciri antara rambut berwarna putih dan mata yang merah, panjang tubuh total 440 mm, panjang ekor 205 mm dan bobot tikus putih pada usia dewasa sekitar 250-500 gram (Potter, 2007). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) telah diketahui sifat-sifatnya secara baik, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang adaptif serta cocok untuk berbagai penelitian (**Gambar 2.5**). Rambut tikus yang tidak tebal mempunyai beberapa keuntungan dalam penelitian yang menggunakan model perlukaan pada epidermis. Pertama, epidermis yang tidak tertutup rambut tebal tidak akan mengganggu pemisahan epidermis dari dermis; kedua, ukuran dari rambut tikus yang tidak tebal membuat model yang ideal untuk penilaian efek dari bahan farmakologi pada proses penyembuhan luka (Choi *et al.*, 2001).



**Gambar 2.5** Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (Sumber: Potter.2007).

Menurut Rukmanasari (2010), tikus yang digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian adalah *Rattus norvegicus* yang memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

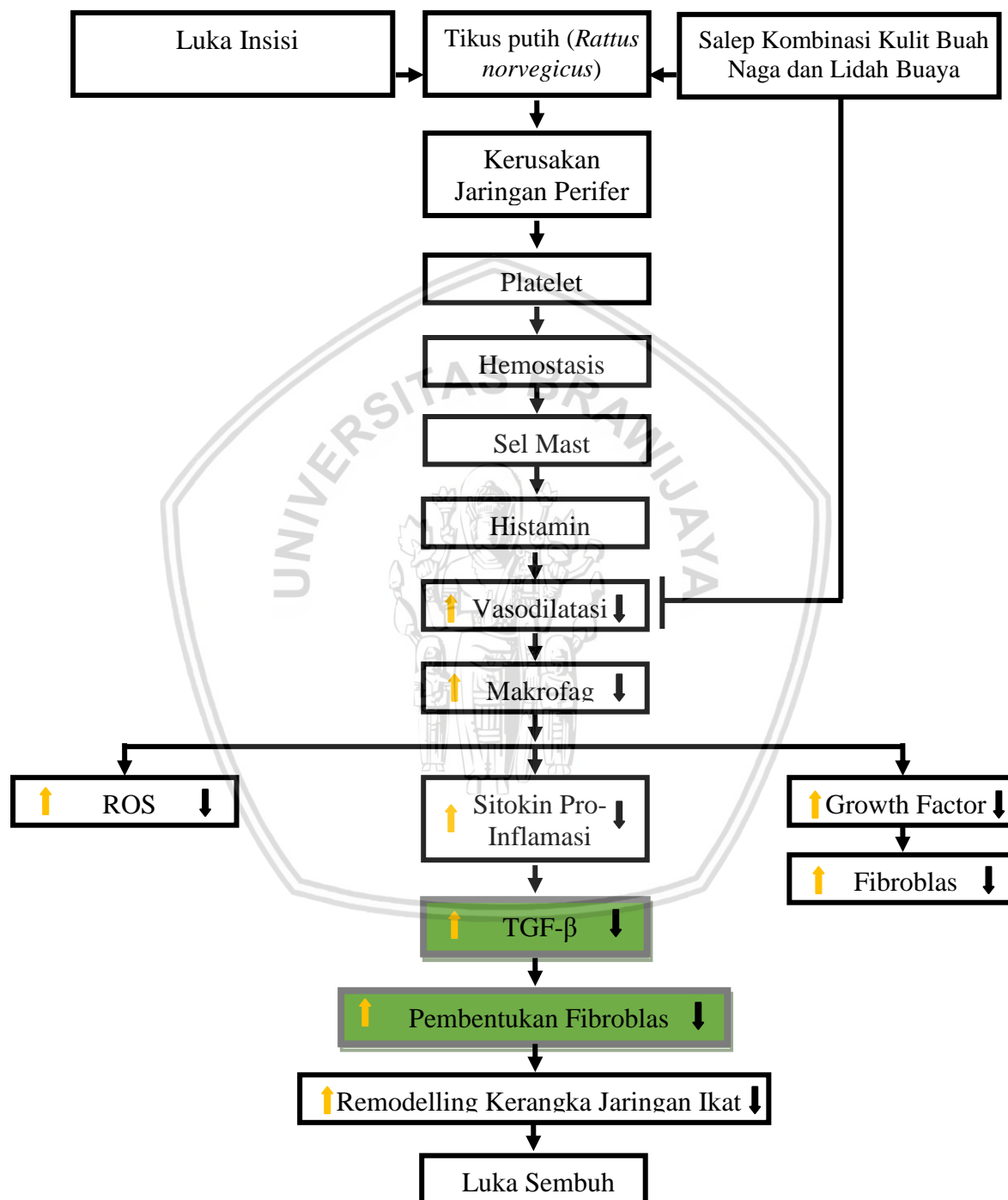
Keunggulan tikus putih dibandingkan tikus liar antara lain lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih cepat berkembang biak. Kelebihan lainnya sebagai hewan laboratorium adalah sangat

mudah ditangani, dapat berukuran cukup besar sehingga memudahkan pengamatan. Tikus termasuk hewan mamalia, oleh sebab itu dampaknya terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dibanding dengan mamalia lainnya. Penggunaan tikus sebagai hewan percobaan juga didasarkan atas pertimbangan ekonomis dan kemampuan hidup tikus hanya 2-3 tahun dengan lama produksi 1 tahun (O'Malley, 2005).



## BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

### 3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan gambar:



: Proses luka insisi



: Terapi salep kombinasi buah naga dan lidah buaya topikal



: Variabel yang diteliti



: Menghambat



: Jalur di dalam tubuh tikus



: Proses inflamasi



: Aktivitas setelah pemberian terapi kombinasi buah naga dan lidah buaya

Cidera atau masuknya mikroorganisme dapat mempengaruhi reaksi imun memberikan respon tubuh berupa radang dan penyembuhan. Penyembuhan luka merupakan penggantian jaringan yang mati/ rusak dengan jaringan baru dan sehat oleh tubuh dengan regenerasi. Vasodilatasi yang terjadi saat luka disebabkan oleh histamin yang dilepaskan oleh sel mast. Pelepasan histamin yang meningkatkan permeabilitas kapiler dengan memperbesar pori kapiler.

Pada fase inflamasi terjadi proses hemostasis yang cepat dan dimulainya suatu siklus regenerasi jaringan. Pada fase inflamasi berbagai sel inflamasi salah satunya adalah makrofag yang berperan dalam eliminasi bakteri dengan cara memproduksi ROS. ROS penting dalam mencegah infeksi bakterial melalui sifat-sifat radikal bebasnya, namun tingginya kadar ROS secara berkepanjangan mengaktifasi dan mempertahankan kaskade asam arakidonat yang akan memicu ulang timbulnya berbagai mediator inflamasi lagi seperti prostaglandin dan leukotrin, sehingga proses inflamasi akan menjadi berkepanjangan. Makrofag

memproduksi berbagai sitokin pro inflamasi, salah satunya adalah *Transforming Growth Factor* (TGF- $\beta$ ) yang dapat memicu ulang proses inflamasi secara langsung.

Adanya luka dipengaruhi oleh sitokin pro inflamasi bersama faktor pertumbuhan seperti *Transforming Growth Factor* (TGF- $\beta$ ) aktif berperan dalam proses penyembuhan. TGF- $\beta$  juga menstimulasi daya hemostasis fibroblas, inhibisi produksi kolagen dan fibronectin, menghambat degradasi kolagen karena peningkatan atau penurunan inhibitor protease. Pada inflamasi kronis TGF- $\beta$  terlibat dalam pertumbuhan fibrosis.

Berbagai macam *growth factor* diproduksi oleh makrofag dan berfungsi untuk memicu proses angiogenesis dan pembentukan fibroblas. Angiogenesis tampak pada hari ke-4 pasca cedera. Proses angiogenesis itu sendiri juga sangat mempengaruhi pembentukan fibroblas. Semakin baik vaskularisasi pada daerah luka, semakin bertambah pula proliferasi fibroblas. Fibroblas memiliki peranan pada fase proliferasi. Fase proliferasi berlangsung mulai hari ke-4 sampai hari ke-21 pasca cedera. Keratinosit yang berada pada tepi luka sesungguhnya telah mulai bekerja beberapa jam pasca cedera, menginduksi terjadinya reepitalisasi.

Proses reepitalisasi terjadi migrasi, proliferasi dan diferensiasi keratinosit. Proses migrasi dimulai beberapa jam setelah terjadi kerusakan pada laminin, sehingga pada kulit yang luka terjadi kontak antara keratinosit dengan kolagen. Proses migrasi dimulai dari tepi luka pada stratum basalis yang merupakan lapisan paling dalam dari epidermis dan sisa adneksa yaitu sisa folikel rambut yang terletak di lapisan dermis, menuju ke stratum korneum yang terletak di bagian

terluar epidermis. Pada tahap *remodelling* fase ketiga dan terakhir, selama fase ini jaringan baru yang terbentuk akan disusun sedemikian rupa seperti jaringan asalnya.

Fase maturasi ini berlangsung mulai ke-21 hingga sekitar 1 tahun. Fase ini segera dimulai segera setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitalisasi usai. Pada proses *remodelling* faktor pertumbuhan seperti PDGF, FGF, TGF $\beta$  dan IL1 akan menstimulasi sintesis kolagen serta jaringan ikat lain yang selanjutnya memodulasi sintesis dan aktivasi metaloproteinase, suatu enzim yang berfungsi untuk degradasi *Extra Celuler Matrix* (ECM) merupakan *remodelling* kerangka jaringan ikat, dan struktur merupakan gambaran pokok penyembuhan luka pada inflamasi kronis. Pada fase ini segera dimulai setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitalisasi selesai. Pada akhir fase *remodelling* jaringan baru hanya akan mencapai 70% kekuatan jaringan awal.

Salep ekstra herbal kulit buah naga dan lidah buaya diberikan untuk tujuan terapi penyembuhan luka insisi. Kulit buah naga mengandung senyawa vitamin C, polifenol, antiinflamasi dan flavonoid sebagai antibakteri. Kandungan polifenol mempunyai peranan sebagai antioksidan. Kandungan vitamin C mempunyai peranan penting dalam sintesis kolagen. Oksigen vitamin C dengan kofaktor Fe<sup>2+</sup> menyebabkan dikeluarkannya sejumlah anion radikal oksigen superoksida (O<sup>2-</sup>). Ketika produksi O<sup>2</sup> melebihi jumlah oksigen yang tersedia, sintesis kolagen akan meningkat, sehingga adanya vitamin C mempengaruhi kesembuhan. Kandungan flavonoid dalam kulit buah naga akan membantu proses *angiogenesis* dalam

penyembuhan luka, mempengaruhi proliferasi fibroblas, memicu pengeluaran faktor pertumbuhan *Keratinocyt Growth Factor* (KGF) sehingga reepitalisasi lebih cepat. Flavonoid sebagai antibiotik, menghambat terjadinya infeksi dengan meningkatkan ekspresi TGF- $\beta$  untuk menurunkan reaksi inflamasi menuju fase proliferasi.

Lidah buaya mengandung asam salisilat untuk mencegah biosintesis prostaglandin dari asam arakhidonat yang mengatur peradangan dan reaksi kekebalan tubuh dengan memproduksi antibodi, memblokir sintesa prostaglandin serta memodulasi produksi limfosit dan makrofag. Vitamin C pada lidah buaya berperan penting sebagai *growth factor* dengan menstimulasi fibroblas (*connecting tissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak sehingga meningkatkan proses *remodelling* dan mengisi daerah luka. Vitamin E sebagai imunostimulator meningkatkan respon imun Th1 untuk pertahanan terhadap patogen intraseluler serta memicu pengeluaran faktor pertumbuhan *Keratinocyte Growth Factor* (KGF) untuk proses reepitalisasi yang lebih cepat dengan menghambat infeksi.

### 3.2 Hipotesa Penelitian

Hipotesa dalam penelitian ini adalah:

1. Salep kombinasi kulit buah naga (*Hylicereus polyrgizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dapat meningkatkan ekspresi TGF- $\beta$  sebagai penyembuhan luka tikus (*Rattus novergicus*) pasca luka insisi.

2. Salep kombinasi kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dapat menurunkan jumlah fibroblas sebagai penyembuhan luka tikus (*Rattus novergicus*) pasca luka insisi.



## BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2017 yang bertempat di UPT Materia Medica Batu, Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Biomedika Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,

### 4.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang tikus, botol minum tikus, timbangan, scalpel, gunting tajam-tajam, gunting tajam-tumpul, pinset, mikroskop (olympus seri BX51®), autoclave, penyaring karet, gelas ukur, blender, wadah kaca tertutup, oven, lemari pendingin, inkubator, plastik klip, mikrotom, cawan petri, spuit injeksi.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar dengan 150-250 gram, NaCL 0,9%, alkohol 70%, ketamin, herbal kulit buah naga, makanan pellet, minuman, vaselin, album, aquades, formalin 10%, larutan xylol, larutan fenol 4%, parafin cair, antibodi TGF- $\beta$ .

Hewan model tikus (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar, 8-12 minggu, 150-250 gram. Hewan coba diadaptasikan selama 6 hari untuk menyesuaikan dengan kondisi laboratorium. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Kusriningrum, 2008).

$$T(n-1) \geq 15$$

Keterangan :

$$5(n-1) \geq 15$$

t : Jumlah perlakuan

$$5n-5 \geq 15$$

n : Jumlah ulangan yang diperlukan

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan di atas, maka diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 4 kali dalam setiap kelompok sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba.

### 4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan eksperimental yang digunakan adalah rancangan eksperimen sederhana yang mana subyek dibagi menjadi 5 kelompok secara random. Tiap kelompok terdiri dari 4 tikus. Kelompok perlakuan dalam penelitian ini antara lain :

- 1) Kelompok 1 : tikus tidak diinsisi dan tidak diberi salep (kontrol negatif).
- 2) Kelompok 2 : tikus diinsisi dan tidak diberi salep (kontrol positif).
- 3) Kelompok 3 : tikus diinsisi dan terapi kombinasi salep buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) 5% secara topikal.
- 4) Kelompok 4 : tikus diinsisi dan terapi kombinasi salep buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) 10% secara topikal
- 5) Kelompok 5 : tikus diinsisi dan terapi kombinasi salep buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lidah buaya (*Aloe vera*) 15% secara topikal



#### 4.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

**Tabel 4.1** Variabel Penelitian

Variabel bebas	Luka insisi dan dosis terapi ekstra kulit buah naga dan lidah buaya.
Variabel terikat	Perkembangan Fibroblas dan ekspresi TGF- $\beta$ .
Variabel kontrol	Tikus, jenis kelamin, berat badan, umur, suhu, pakan, dan kandang.

#### 4.5 Tahapan Penelitian

1. Persiapan hewan coba.
2. Pembuatan ekstrak kulit buah naga dan lidah buaya.
3. Pembuatan salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya.
4. Perlakuan sayatan pada hewan coba.
5. Terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya.
6. Pengambilan dan pembuatan preparat kulit.
7. Ekspresi TGF- $\beta$  dengan metode Imunohistokimia (IHK)
8. Tahap perhitungan jumlah fibroblas.
9. Analisa data.

#### 4.6 Prosedur Kerja

##### 4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Tikus diadaptasi selama tujuh hari dengan pakan *pallet*. Komposisi ransum yang diberikan yaitu mengandung karbohidrat, protein 10%, lemak 3%, mineral,

vitamin dan air 12%. Tikus dikandangkan dalam kandang berukuran 17.5 x 23.75 x 17.5 cm. Kandang terbuat dari bahan plastik dengan tutup terbuat dari rangka kawat, berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut dan terjaga dari asap industri serta polutan lainnya. Tikus diberi tanda atau label pada ekornya dengan menggunakan spidol tahan air sesuai kelompoknya. Tikus diusahakan tidak lapar, tidak haus, bebas stres, dan leluasa bergerak. Pemberian pakan dan minum dilakukan setiap hari secara *ad libitum*. Kandang ditempatkan di ruangan yang tenang, tidak bising dan cukup cahaya. Kebersihan kandang dijaga setiap hari dan sekam diganti 1 hari sekali.

#### **4.6.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Naga dan Lidah Buaya.**

Kriteria buah naga yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah naga dengan kelas (*grade*) B dengan bobot buah antara 350-500 gram/buah. Pemilihan buah naga dengan *grade* B adalah karena buah naga dengan *grade* ini mudah ditemukan dan terjangkau. Kriteria lidah buaya yang digunakan dalam penelitian ini adalah lidah buaya yang memiliki daging yang tebal dan tidak keriput.

##### **1. Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Naga**

Sampel buah naga merah dikupas dan dibersihkan untuk memisahkan daging buah dengan kulitnya, selanjutnya kulit buah naga dipotong kecil-kecil kemudian dicuci setelah itu dikeringkan selama 3 hari selanjutnya diblender sampai halus. Hasil yang didapat sebanyak 250 gram sampel kulit buah yang telah halus diekstrak dengan teknik maserasi basah menggunakan pelarut etanol 96%, dilakukan perendaman lalu kocok sampai benar-benar tercampur ( $\pm 30$  menit), diamkan 1 malam sampai mengendap, kemudian disaring dan filtratnya

ditampung, proses perendaman ini dilakukan sampai 3 kali. Filtrat tersebut diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum* evaporator dibiarkan larutan etanol berhenti menetes pada labu penampung ( $\pm 1,5$  sampai 2 jam untuk 1 labu)  $\pm 900$  ml sehingga didapat ekstrak kental etanol kemudian ditimbang beratnya (Cahyono, 2009).

## 2. Pembuatan Ekstrak lidah buaya

Lidah buaya sebanyak 500 gram dicuci bersih dengan air mengalir dan ditiriskan dengan tampah. Daging lidah buaya dipisahkan dari kulit, dipotong kecil-kecil dan diblender sampai halus lalu diperas dan diambil sarinya sebanyak 250 ml. Sari lidah buaya ditambahkan etanol 70% sampai terendam di dalam wadah yang ditutup rapat selama 24 jam diatas *shaker* berkecepatan 50 rpm. Ekstrak dipisahkan dari endapan menggunakan saringan. Hasil ekstrak diuapkan menggunakan *rotary evaporator* selama 2 jam kemudian diuapkan di atas *waterbath* selama 2 jam menghasilkan ekstraksi berupa cairan (Cahyono, 2009).

### 4.6.3 Pembuatan Salep Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga Dan Lidah Buaya.

Salep kulit buah naga dan lidah buaya dibuat dengan bahan dasar vaselin album dan cera alba. Menurut Naibaho dkk., (2013), salep dengan bahan dasar hidrokarbon memiliki waktu kontak dan daya absorpsi yang tinggi dibandingkan dengan basis salep lainnya. Pembuatan salep kombinasi kulit buah naga dan lidah buaya menggunakan formulasi salep vaselin albumin 95% dan cera alba 5%. Prosedur pembuatannya yaitu cera alba 5% dileburkan pada cawan penguap menggunakan *waterbath* kemudian ditambahkan vaselin albumin 95% dan diaduk

hingga merata, angkat cawan dari *waterbath* dan dimasukkan kulit buah naga 1 gram dan lidah buaya sebanyak 1 gram, aduk hingga menjadi salep.

#### **4.6.4 Perlakuan Sayatan Pada Hewan Coba**

Rambut tikus dicukur sampai licin seluas 4 cm x 4 cm, kemudian dibersihkan dengan kapas beralkohol 70% dan dilakukan anastesi dengan menggunakan ketamin (10 mg/kg BB) secara intramuskular (Danu, 2012). Luka insisi dibuat sepanjang 2 cm dan kedalaman sampai subkutan dengan scalpel di daerah punggung tikus. Insisi dilakukan dengan menyayat kulit menggunakan scalpel (Sudrajat, 2006).

#### **4.6.5 Pemberian Terapi Ekstrak Kulit Buah Naga Kombinasi Lidah Buaya**

Pemberian terapi dilakukan sehari sekali secara topikal dengan cara mengoleskan salep kulit buah naga kombinasi lidah buaya sebanyak 50 mg pada area yang dilakukan luka insisi dengan konsentrasi bertingkat yaitu 5% pada kelompok tikus 3, 10% pada kelompok 4, dan 15% pada kelompok tikus 5 sehari sekali selama 6 hari. Konsentrasi salep yang digunakan pada penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Laila (2016), yaitu 5%, 10%, dan 15%.

#### **4.6.6 Pengambilan dan Pembuatan Preparat Kulit**

Pengambilan jaringan kulit pada hewan coba tikus putih (*Rattus novergicus*) dilakukan pada hari ke 6 yang selanjutnya diikuti pengambilan atau pemotongan jaringan. Langkah awal yang dilakukan yaitu euthanasi dengan cara dislokasi leher. Pemotongan dilakukan pada bagian subkutan, tikus diletakkan dengan posisi dorso ventral pada papan penyayatan. Bagian kulit luas area sampai

subkutan diisolasi dan dibilas dengan NaCl 0,9%. Kulit dipotong menjadi dua bagian lalu masing-masing bagian dimasukkan dalam pot yang berisi larutan formalin 10% selama 24 jam, untuk selanjutnya dibuat preparat histologi dengan pewarnaan imunohistokimia (IHK).

Kulit direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam. Setelah dilakukan perendaman, kulit dikeluarkan dari larutan fiksatif lalu dicuci sebentar dengan air mengalir dan direndam dalam larutan fenol 4% dalam akuades selama 1-3 hari. Tahap selanjutnya yaitu dehidrasi, yakni merendam jaringan kulit ke dalam larutan alkohol secara bertahap, yaitu alkohol 70%, alkohol 80%, dan alkohol 90% masing-masing selama 1 hari. Kulit kemudian direndam lagi dengan alkohol 95% selama 2 hari yang diganti setiap harinya. Kulit yang sudah melalui tahap dehidrasi direndam ke dalam cairan xylol I selama 15 menit dan xylol II selama 15 menit. Jaringan kulit harus dipadatkan menggunakan parafin agar mudah dipotong. Kulit dibenamkan ke dalam parafin (paraplast I) selama 2 jam, kemudian dipindahkan ke dalam parafin (paraplast II) selama 1 jam, dan dimasukan ke dalam parafin (paraplast III) selama 2 jam. Tahap selanjutnya adalah *blocking* yaitu *histoplate* diletakan di atas piringan logam. Cairan parafin dituangkan sedikit ke dalam cetakan tersebut dan secepatnya jaringan dimasukkan ke dalam cetakan. Parafin cair kemudian dituangkan kembali hingga menutupi seluruh cetakan tersebut.

Tahap pemotongan jaringan dilakukan dengan menggunakan mikrotom. Pisau pada mikrotom diletakkan pada sudut tertentu. Blok parafin yang akan dipotong direkatkan pada holder dengan menggunakan spatula. Blok preparat

kemudian diletakkan pada tempatnya di mikrotom dan diatur jarak preparat ke arah pisau sedekat mungkin. Ketebalan irisan  $\pm 5 \mu\text{m}$ . Rotor mikrotom kemudian diputar secara ritmis. Pita-pita awal yang tanpa jaringan dibuang dan setelah potongan mengenai jaringan. Jaringan dipindahkan secara hati-hati dengan sengkeli ke atas air di dalam waterbath yang diatur pada suhu  $55^{\circ}\text{C}$ , tujuannya agar lembaran atau pita parafin berkembang dengan baik. Pita parafin akan berkembang dengan baik dan parafin ditempelkan di kaca objek yang telah diolesi albumin. Kaca objek kemudian disimpan selama 12 jam agar benar-benar kering (Setiabudi, 2005).

#### 4.6.7 Ekspresi TGF- $\beta$ dengan Metode Imunohistokimia (IHK)

Metode pewarnaan imunohistokimia diawali dengan perendaman slide preparat pada xylol 1, xylol 2 dan etanol bertingkat (70%, 80%, 90%, 100%). Slide preparat kemudian dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 1x15 menit selanjutnya ditetesi dengan 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  selama 20 menit. Setelah itu dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali dan diblok dengan 5 % FBS (*Fetal Bovine Serum*) selama 1 jam. Slide preparat dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali dan selanjutnya diinkubasi dengan antibodi primer *anti mouse* TGF- $\beta$  pH SC 31610 selama 1 jam dengan suhu ruang dan dilakukan pencucian kembali dengan pBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Berikutnya diinkubasi dengan antibodi sekunder anti mouse igG berlabel *Santa Cruz Biotechnology Inc®* selama 1 menit dengan suhu ruang. Slide dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali.



Slide preparat ditetesi dengan *Strep Avidin Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP) selama 40 menit. Kemudian dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Slide ditetesi dengan *Diamano Benxidine* (DAB) selama 10 menit. Slide dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali. Slide dicounterstaining menggunakan *Mayer Hematoxylen* selama 10 menit. Slide dicuci dengan air mengalir. Slide dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Slide di mounting dengan entellan dan ditutup dengan cover glass.

Pengamatan ekspresi TGF- $\beta$  dilakukan dengan mikroskop perbesaran 400x dengan lima bidang pandang pengamatan. Hasil foto dari mikroskop kemudian diproses menggunakan *software axiovision®* untuk mengamati peningkatan ekspresi TGF- $\beta$  yang ditandai dengan peningkatan presentasi luas daerah yang terwarnai.

#### **4.6.8 Tahap Perhitungan Jumlah Fibroblas**

Fibroblas dinilai dengan cara menghitung jumlah pada lima lapang pandang. Perhitungan jumlah fibroblas dengan Optilab® perbesaran 400x dan menggunakan program ImageRaster® dengan perbesaran foto 400x. Fibroblas dilihat dengan gambaran jenis sel berbentuk elips dan berinti serta berwarna ungu pucat. Hasil pengamatan jumlah fibroblas pada lima lapang pandang dari masing-masing sampel dan dirata-rata, kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol dan perlakuan (Kartikaningtyas dkk., 2015).

#### **4.6.9 Analisis Data**

Data penelitian ini berupa data kuantitatif ekspresi TGF- $\beta$  dan jumlah fibroblas dengan analisis statistik ANOVA satu arah (SPSS *for windows*). Analisa

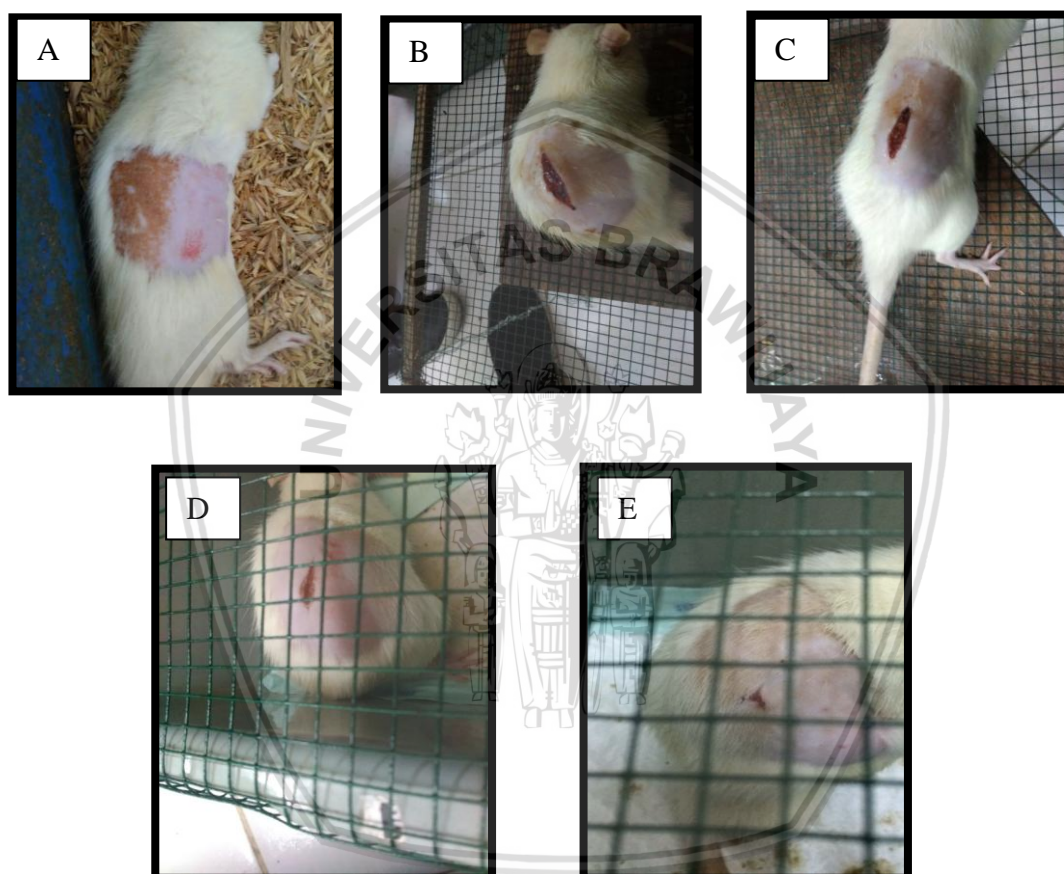


*one-way ANOVA* dengan uji distribusi data, kemudian dilanjutkan uji homogenitas untuk mengetahui data tersebut memiliki varian yang sama atau tidak. Apabila data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji *one-way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan rata-rata antar kelompok perlakuan atau perbedaan secara keseluruhan atau kelompok perlakuan. Apabila hasil uji *one-way ANOVA* menunjukkan hasil yang signifikan ( $p < 0,05$ ), maka dapat dilakukan uji lanjutan uji *Tukey* (Beda Nyata Jujur) dengan  $\alpha$  5% (Kusriningrum, 2008).



## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

Tikus (*Rattus norvegicus*) yang telah diinsisi pada daerah punggung kemudian dilakukan dan diberikan terapi salep ekstrak kulit buah naga pada bagian punggung yang telah diinsisi seperti **Gambar 5.1**.



**Gambar 5.1** Gambaran makroskopis jaringan kulit tikus pada hari ke enam

Keterangan : (A) kontrol negatif. (B) kontrol positif. (C) terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 5%. (D) terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 10%. (E) terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 15%.

Gambaran makroskopis jaringan kulit tikus kontrol negatif tidak diberikan perlakuan apapun atau tanpa dilakukan insisi menunjukkan kulit dalam keadaan normal atau sehat (**Gambar 5.1 A**). Berbeda dengan tikus kontrol positif dilakukan insisi pada daerah punggung namun tidak diberikan terapi menunjukkan penutupan luka belum sempurna yaitu pada hari keenam area insisi masih terdapat banyak debris dan area luka masih terbuka, adanya jaringan parut yang lembab, pembengkakan, tidak ada pertumbuhan rambut pada area kulit yang luka (**Gambar 5.1 B**). Kelompok terapi 1 diberikan salep terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 5% menunjukkan luka belum mengering sempurna, rubor, area luka masih terbuka dan belum tampak adanya pertumbuhan rambut (**Gambar 5.1 C**).

Kelompok terapi 2 diberikan terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 10% menunjukkan luka sudah mengering tapi belum sempurna, rubor memudar, debris menghilang, namun masih ada luka yang sedikit terbuka dan belum ditumbuhi rambut (**Gambar 5.1 D**). Kelompok terapi 3 diberikan terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 15% menunjukkan penutupan luka tapi belum sempurna yaitu area luka sedikit bersih dari debris, luka mulai menipis dan kulit mulai ditumbuhi rambut (**Gambar 5.1 E**). Pengaruh pemberian salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya terhadap jumlah fibroblas pada jaringan kulit luka insisi dilakukan pewarnaan dengan metode HE dan peningkatan ekspresi TGF- $\beta$  dengan metode Imunohistokimia.

### 5.1 Pengaruh Salep Ekstrak Kulit Buah Naga Terhadap Jumlah Fibroblas Kulit Tikus Pasca Luka Insisi.

Hasil uji statistika mengenai pengaruh pemberian ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya terhadap jumlah fibroblas luka insisi pada lima perlakuan yaitu K- (kontrol negatif), K+ (kontrol positif), P1 (tikus insisi + konsentrasi 5%), P2 (tikus insisi + konsentrasi 10%), P3 (tikus insisi + konsentrasi 15%) memperlihatkan adanya perbedaan pada jumlah fibroblas (**Tabel 5.1**).

**Tabel 5.1** Jumlah fibroblas Pada Kelompok Tikus Perlakuan

Kelompok	Rata-rata Jumlah Fibroblas
	(sel)±SD
K- (Kontrol negatif)	13,05 ± 0,55 <sup>a</sup>
K+ (Kontrol Positif)	21,00 ± 0,81 <sup>c</sup>
P1 (Salep 5%)	20,60 ± 0,48 <sup>c</sup>
P2 (Salep 10%)	16,10 ± 1,89 <sup>b</sup>
P3 (Salep 15%)	13,60 ± 0,48 <sup>a</sup>

Keterangan : Perbedaan notasi a,b,c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara kelompok perlakuan.

Rata-rata jumlah fibroblas pada K- digunakan sebagai standart untuk mengetahui adanya peningkatan atau penurunan yang terjadi karena pengaruh perlakuan. Kelompok K- tidak terjadi rangsangan eksogen yang menimbulkan kerusakan sel, sehingga tidak memicu reaksi vaskuler kompleks pada jaringan ikat yang ada pembuluh darah, dan reaksi inflamasi tidak terjadi, sehingga tidak terjadi peningkatan komponen seluler dan ekstraseluler yang termasuk komponen seluler adalah eritrosit, leukosit (neutrofil, basofil, monosit, limfosit) dan trombosit. Komponen ekstraseluler seperti kolagen, glikoprotein adesif, fibronektin laminin, kolagen non fibril, dan proteoglikan, sedangkan yang termasuk komponen

jaringan ikat adalah sel mast, fibroblas, monosit, makrofag dan limfosit (Febram, dkk. 2010). Jumlah fibroblas pada kelompok kontrol negatif menjadi lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan dikarenakan tidak adanya proses inflamasi.

Peran fibroblas sangat penting pada proses perbaikan yaitu bertanggung jawab pada persiapan menghasilkan produk struktur protein yang akan digunakan selama proses rekontruksi jaringan. Fibroblas berpindah ke daerah luka mulai 3 hari setelah pembedahan. Pada jaringan yang normal (tanpa perlukaan) pemaparan sel fibroblas sangat jarang dan biasanya bersembunyi di matriks jaringan ikat. Setelah terjadi luka, kemudian akan berproliferasi serta mengeluarkan beberapa substansi (kolagen, elastin, *hyaluronic acid*, *fibronectin* dan *proteoglycans*) yang berperan dalam rekontruksi (Febram, dkk. 2010).

Kelompok K<sup>+</sup> menunjukkan nilai rata-rata jumlah fibroblas sebesar 21,00  $\pm$  0,81 atau mengalami peningkatan terhadap K<sup>-</sup> (**Tabel 5.1**). Adanya peningkatan jumlah fibroblas dipengaruhi oleh peningkatan sel makrofag pada luka, karena sel makrofag menghasilkan faktor-faktor pertumbuhan, seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) *fibroblas growth factor* (FGF), *epidermal growth factor* (EGF), dan *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ). Peningkatan kepadatan fibroblas ini disebabkan oleh meningkatnya rangsangan sekretori FGF sebagai hasil dan degranulasi platelet. Faktor-faktor ini mempengaruhi proliferasi fibroblas dan pembuluh darah (Febram, dkk. 2010).

Kelompok P1 menunjukkan nilai rata-rata jumlah fibroblas sebesar 20,60  $\pm$  0,48 atau mengalami penurunan terhadap K<sup>+</sup>. Kelompok P2 menunjukkan nilai rata-rata jumlah fibroblas sebesar 16,10  $\pm$  1,89 atau mengalami penurunan

terhadap K+. Penurunan jumlah fibroblas pada P1 dan P2 diduga karena adanya pengaruh dari vitamin C yang terkandung dalam kulit buah naga dan lidah buaya yang berperan dalam differensiasi sel, sintesis kolagen dan mempercepat proliferasi fibroblas. P1 merupakan dosis yang kurang optimal pada penelitian ini untuk menurunkan jumlah fibrobas. Menurut Naibaho dkk., (2013) dasar salep senyawa hidrokarbon dengan konsentrasi lebih banyak akan menyebabkan kondisi luka dalam keadaan lembab. Kondisi lembab pada jaringan yang rusak menyebabkan luka lebih mudah untuk luruh sehingga akan merangsang datangnya sel radang untuk memfagositosis luruhan-luruhan sel-sel tersebut (Febram, dkk. 2010)

Kelompok P3 menunjukkan nilai rata-rata jumlah fibroblas sebesar  $13,60 \pm 0,48$  atau mengalami penurunan terhadap K+. P3 merupakan dosis paling efektif pada penelitian ini untuk menurunkan jumlah fibroblas berdasarkan jumlah fibroblas P3 yang mendekati K- dibandingkan dengan P1 dan P2. Hal ini menunjukkan pemberian terapi salep kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 15% pada luka insisi mempunyai efek dalam menurunkan jumlah fibroblas dengan cara mempercepat proliferasi pada fase fibroplasia. Pada hari ke enam (fase proliferasi) luka sudah tertutup oleh epitel sehingga fibroblas tidak mengalami proliferasi dan terjadi maturasi fibrosit sehingga jumlahnya menurun. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa proses penyembuhan luka berjalan dengan baik karena terapi salep kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 15% mempercepat terjadinya proses penyembuhan luka.



Pemberian terapi salep kulit buah naga kombinasi lidah buaya mampu menurunkan jumlah fibroblas. Seluruh kelompok perlakuan terapi memberikan pengaruh terhadap penurunan jumlah fibroblas. Berdasarkan gambaran makroskopis, mikroskopis dan uji statistika, P2 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok K+ mampu menurunkan jumlah fibroblas sehingga mendekati kondisi normal K-. Keadaan ini membuktikan bahwa terjadi proses penyembuhan luka yang semakin cepat, sehingga luka yang terjadi sudah mengalami kesembuhan luka. Proses penyembuhan luka terdiri dari fase inflamasi, proliferasi dan maturasi. Pada fase proliferasi akan terlihat peningkatan jumlah sel dan faktor-faktor penyembuhan luka, salah satunya yaitu terjadi proliferasi fibroblas. Proliferasi dari fibroblas menentukan hasil akhir dari penyembuhan luka. Fibroblas adalah sel yang mensintesis matriks ekstraseluler dan kolagen yang berperan penting dalam penyembuhan luka. Fibroblas berfungsi mempertahankan integritas struktur jaringan ikat dengan memproduksi matriks ekstraseluler. Fibroblas terakumulasi di daerah luka antara dua sampai lima hari pasca cedera. Fibroblas akan memproduksi matriks ekstraseluler yang kemudian akan digantikan oleh kolagen yang akan menautkan luka, dan fibroblas juga akan mempengaruhi proses reepitalisasi yang akan menutup luka. Fase proliferasi fibroblas akan segera mmenghilang setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka (Gurtner, 2007).

Proses epitelisasi merupakan tahapan perbaikan luka yang meliputi mobilisasi, migrasi, mitosis, diferensiasi sel epitel menjadi epidermis yang berlapis-lapis, dan mengembalikan *basement membrane zone* menjadi utuh yang



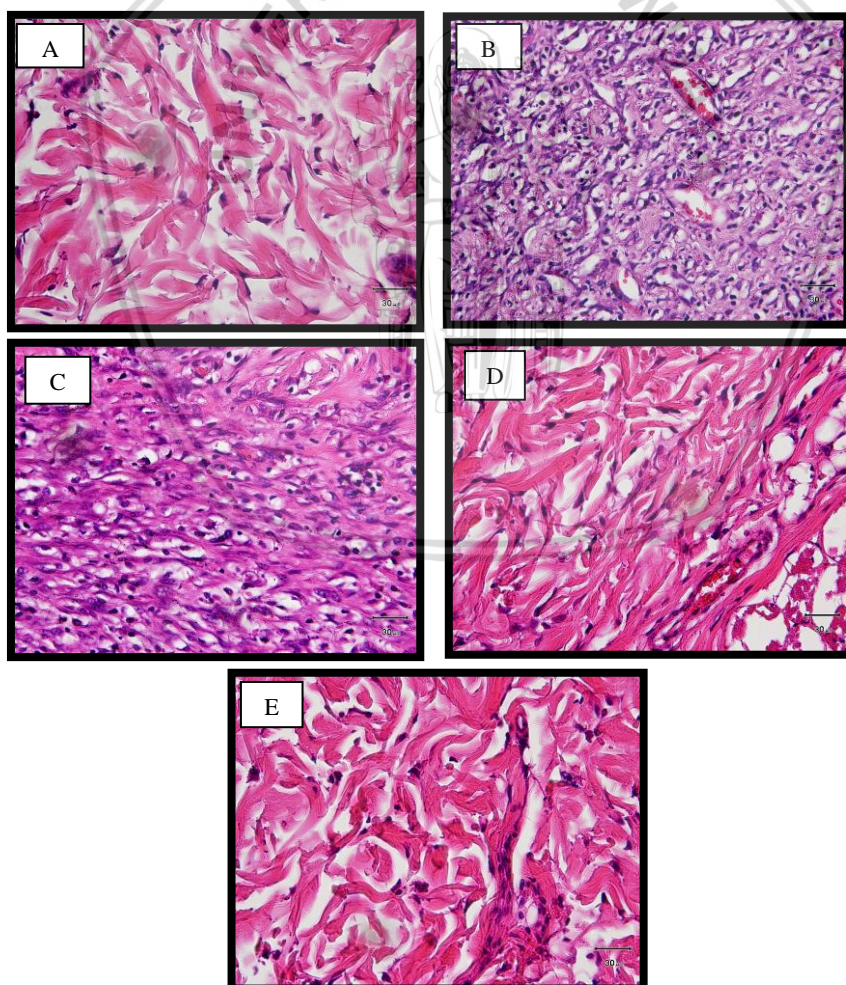
menghubungkan epidermis dan dermis yang dipengaruhi oleh EGF, TGF- $\beta$  dan KGF. Proliferasi sel epitel berupa aktifitas mitosis dari sel-sel epitel yang berada di dekat tepi luka. Kemudian beberapa sel epitel yang telah matang akan keluar dari tepi luka dengan gerakan amuboid menuju bagian permukaan luka hingga sel epitel yang bermigrasi dari segala arah akhirnya menyatu di bagian tengah luka. Apabila sel-sel epitel telah menyatu di bagian tengah luka, maka luka akan tertutup sepenuhnya dan terbebas dari kontaminasi lingkungan luar tubuh dengan lebih baik. Luka dapat dikatakan sembuh apabila daerah luka tersebut telah mengalami epitelisasi secara menyeluruh dan tidak lagi membutuhkan perawatan (Febram, 2010).

Kulit buah naga kombinasi lidah buaya juga mengandung vitamin E, vitamin C. Vitamin E berperan dalam meningkatkan reepitalisasi dengan cara meningkatkan aliran darah menuju ke sel yang rusak sehingga mempercepat pemulihan sel epitel yang rusak (Rahayu dkk., 2010). Vitamin C sangat penting sebagai *growth factor*. *Growth factor* ini berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connectivetissue*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, yang akan mengisi daerah luka dan dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Keadaan kekebalan tubuh yang baik ini dapat meningkatkan fungsi sistem imun, sehingga dapat meningkatkan proliferasi fibroblas (Putra dkk., 2010).

Salep kulit buah naga kombinasi lidah buaya juga mengandung polisakarida yang berfungsi sebagai anti-inflamasi yang bekerja dengan cara menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase pada kaskade inflamasi,

sehingga produksi prostaglandin dan leukotrien dapat berkurang. Penekanan prostaglandin sebagai mediator inflamasi dapat menyebabkan berkurangnya nyeri dan pembengkakan, mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dalam aliran darah lokal, sehingga sel radang akan menurun (Balqis dkk., 2014).

Hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya terhadap jumlah fibroblas luka insisi pada lima perlakuan yaitu A (kontrol negatif), B (kontrol positif), C (tikus insisi + konsentrasi 5%), D (tikus insisi + konsentrasi 10%), E (tikus insisi + konsentrasi 15%) memperlihatkan adanya perbedaan pada jumlah fibroblas (**Gambar 5.2**).



**Gambar 5.2** Gambaran Mikroskopis Perkembangan Fibroblas Jaringan Kulit Tikus dengan pewarnaan HE (perbesaran 400x)

Keterangan : (A) kontrol negatif. (B) kontrol positif. (C) terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 5%. (D) terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 10%. (E) terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya 15%.

Gambaran mikroskopis fibroblas terlihat pada semua kelompok. Fibroblas tersebar pada jaringan ikat di bagian dermis (**Gambar 5.2**). Pada pewarnaan HE terlihat fibroblas memiliki sitoplasma yang berbentuk elips dan memiliki satu inti dan berwarna ungu pucat. Kelompok kontrol negatif menunjukkan adanya jumlah fibroblas sedikit. Fibroblas dalam keadaan normal jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dalam keadaan cedera. Hal tersebut menunjukkan jumlah fibroblas muncul dalam kondisi normal pada luka untuk pertahanan kondisi homeostatis dalam sistem imunitas menginisiasi pembentukan jaringan ikat baru (**Gambar 5.2 A**).

Kelompok kontrol positif menunjukan jumlah fibroblas lebih banyak dibandingkan dengan kontrol negatif (**Gambar 5.2 B**). Sel-sel fibroblas pada terapi salep kulit buah naga kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 5% terlihat lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol positif (**Gambar 5.2 C**). Sel-sel fibroblas pada terapi salep kulit buah naga kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 10% terlihat lebih sedikit dibandingkan dengan konsentrasi 5% (**Gambar 5.2 D**). Jumlah sel fibroblas pada konsentrasi 15% lebih sedikit dibandingkan pada konsentrasi 10%. (**Gambar 5.2 E**).

## 5.2 Ekspresi *Transforming Growth Factor Betta* (TGF- $\beta$ )

Pengukuran presentase area ekspresi TGF- $\beta$  dilakukan dengan diperoleh jumlah rata-rata ekspresi TGF- $\beta$  pada **Tabel 5.2**.

**Tabel 5.2** Ekspresi *Transforming Growth Factor Beta*

Kelompok	Rata-rata Jumlah TGF- $\beta$
	(sel) $\pm$ SD
K- (Kontrol negatif)	51,95 $\pm$ 1,35 <sup>b</sup>
K+ (Kontrol Positif)	42,95 $\pm$ 0,574 <sup>a</sup>
P1 (Salep 5%)	44,75 $\pm$ 0,754 <sup>a</sup>
P2 (Salep 10%)	61,60 $\pm$ 0,938 <sup>c</sup>
P3 (Salep 15%)	62,85 $\pm$ 0,929 <sup>c</sup>

Keterangan: Perbedaan notasi a,b dan c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara kelompok perlakuan.

Hasil analisis statistika menunjukan bahwa perlakuan luka insisi pada tikus kelompok kontrol negatif menunjukan ekspresi TGF- $\beta$  dengan rata-rata 51,95  $\pm$  1,35 yang digunakan sebagai standar untuk menentukan peningkatan atau penurunan ekspresi TGF- $\beta$  pada kelompok positif dan terapi.

Kelompok kontrol yang diberikan terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 5%,10%,15% pada luka insisi, ekspresi *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- $\beta$ ) mengalami peningkatan pada kelompok P2 dan P3 dan mengalami penurunan pada kelompok kontrol positif dan P1.

Ekspresi *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- $\beta$ ) pada kelompok P2 dan P3 mengalami peningkatan menunjukan bahwa proses penyembuhan luka dalam fase proliferasi, hal ini dikarenakan salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya memiliki kandungan flavonoid sebagai antiinflamasi pada luka, sehingga dapat menurunkan mediator inflamasi, dan proses penyembuhan luka segera memasuki fase proliferasi. Sifat antioksidan yang terdapat dikulit



buah naga juga mencegah kerusakan endotel yang menyebabkan hipoksia. Pada keadaan hipoksia akan merangsang regulator TGF- $\beta$  sehingga ekspresi TGF- $\beta$  akan mengalami peningkatan. Fase proliferasi ekspresi *Transforming Growth Factor- Betta* (TGF- $\beta$ ) akan banyak muncul karena pada fase TGF- $\beta$  akan berperan dalam proses angiogenesis. Adanya *growth factor* seperti TGF- $\beta$  pada fase proliferasi akan merekrut fibroblas, keratinosit, dan sel endotel untuk mengisi jaringan yang luka (Burn, 2006).

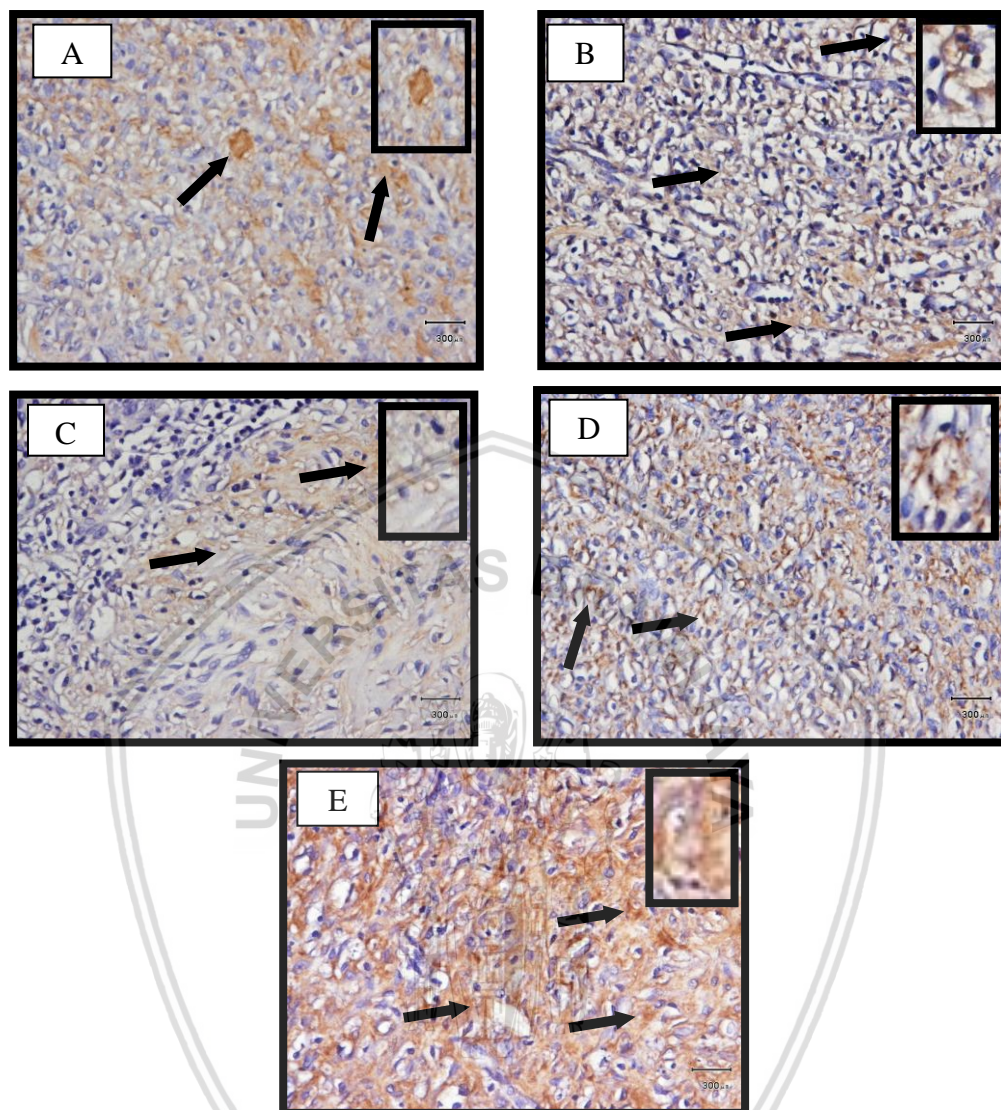
Ekspresi *Transforming Growth Factor- Betta* (TGF- $\beta$ ) kelompok P1 dan Kontrol positif mengalami penurunan karena pada pengamatan makroskopis kelompok P1 keadaan luka masih dalam fase inflamasi, hal ini mungkin dikarenakan terdapat beberapa faktor lamanya kesembuhan luka yaitu antara lain kelembaban luka, karena luka membutuhkan kondisi yang lembab untuk proses penyembuhan, selain itu adanya benda asing dan temperatur luka, temperatur luka yang konstan kira-kira 37°C akan mendukung proses penyembuhan luka (Ekaputra, 2013).

Proses penyembuhan luka berkaitan erat dengan meningkatnya ekspresi TGF- $\beta$ . Peningkatan ekspresi *Transforming Growth Factor* (TGF- $\beta$ ) pada luka menunjukkan bahwa luka akan mengalami kesembuhan. Ekspresi *Transforming Growth Factor* (TGF- $\beta$ ) juga akan meningkat pada saat luka mengalami fase proliferasi. Tekanan oksigen dapat berfungsi sebagai regulator TGF- $\beta$ . Paparan kondisi hipoksia menginduksi ekspresi TGF- $\beta$  dengan cepat. Sebaliknya, dalam kondisi kadar oksigen normal (normoksia), ekspresi TGF- $\beta$  menurun dan

mengalami stabilisasi. Tingkat ekspresi TGF- $\beta$  juga bergantung pada jumlah sitokin inflamatori (Burn, 2006).

Salep ekstrak kulit buah naga (*Hylicereus polyrhizus*) mengandung senyawa flavonoid yaitu formononetin, apigenin, kaemferol dan quercetin yang bekerja sebagai antioksidan. Kandungan ini telah dikonfirmasi dengan hasil uji *Liquid Chromatography- Mass Spectrofotometry* (LCMS). Lidah buaya (*Aloe vera*) juga mengandung vitamin C, vitamin E, dan vitamin A. Flavonoid sebagai antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan atau reduktor. Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga menghentikan pembentukan senyawa oksigen (ROS). Flavonoid mempunyai berat molekul kecil tapi mampu menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal bebas (Winarsi, 2007). Tamat (2007) menyatakan bahwa antioksidan merupakan zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi sehingga dapat menstimulasi HIF-1 $\alpha$  untuk pembentukan kembali (TGF- $\beta$ ) dalam proses angiogenesis kesembuhan luka. Peran flavonoid ini juga dikombinasikan dengan kandungan vitamin C yang dapat membantu fibroblas dalam mensintesis kolagen untuk perbaikan jaringan kulit.

Hasil penelitian mengenai pengaruh terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya terhadap ekspresi TGF- $\beta$  tikus model pasca insisi dengan metode imunohistokimia dapat dilihat pada **Gambar 5.3**.



**Gambar 5.3.** Ekspresi TGF- $\beta$  Jaringan Kulit Tikus Dengan Pewarnaan Imunohistokimia (perbesaran 400x).

Keterangan : (A) kontrol negatif (K-), (B) kontrol positif (K+), (C) terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 5% (P1), (D) terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 10% (P2) dan (E) terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya konsentrasi 15% (P3).



Ekspresi TGF- $\beta$  dengan teknik imunohistokimia ditunjukkan dengan adanya ekspresi warna kecoklatan pada bagian sitoplasma sel endotel. Adanya warna coklat diakibatkan oleh adanya ikatan antara antigen dan antibodi yang berada pada jaringan dengan antibodi yang diberikatan pada penelitian ini digunakan 2 jenis antibodi yaitu antibodi primer yang berikatan dengan antigen pada jaringan, dan antibodi sekunder berlabel biotin. Pemberian antibodi sekunder diikuti dengan penambahan enzim berupa SA-HRP (Strepta Avidin Horseradish Peroxidase) dan substratnya berupa kromogen DAB. Kromogen DAB merupakan substrat dari peroksidase yang dapat menghasilkan warna kecoklatan, sehingga akan terbentuk warna yang lebih jelas pada jaringan (Elias *et al*, 2000).

Berdasarkan **Gambar 5.3 A** (Kelompok kontrol negatif) menunjukkan adanya ekspresi TGF- $\beta$  pada panah merah. Ekspresi TGF- $\beta$  pada K (-) lebih banyak dibandingkan dengan kelompok positif (**Gambar 5.3 B dan C**). Hal tersebut menunjukkan ekspresi TGF- $\beta$  muncul dalam kondisi normal dan sembuh (**Gambar 5.3 A**). Kelompok terapi ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya (**Gambar 5.3 D dan E**) menunjukkan ekspresi TGF- $\beta$  muncul dalam kondisi luka untuk menginisiasi pembentukan pembuluh darah baru. Gambaran ekspresi TGF- $\beta$  ditandai dengan warna coklat pada bagian sel endotel. Kelompok terapi ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya (**Gambar 5.3 D dan E**) menunjukkan ekspresi TGF- $\beta$  yang lebih banyak dari pada kelompok tikus kontrol negatif dan P1 (**Gambar 5.3 B dan C**), hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok P2 dan P3 luka dalam proses penyembuhan pada fase proliferasi. TGF- $\beta$  paling banyak

terdapat di area pembuluh darah karena TGF- $\beta$  memiliki sel target sel endotel pada bagian sitoplasma untuk pembentukan pembuluh darah baru (Layla, 2016)



## BAB 6 PENUTUP

### 6.1 Kesimpulan

1. Terapi ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 15% pada luka insisi tikus merupakan dosis efektif yang menurunkan jumlah fibroblas rata-rata 13,60 sel/lapang pandang.
2. Terapi ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya dengan konsentrasi 15% pada luka insisi tikus merupakan dosis efektif yang meningkatkan ekspresi TGF- $\beta$  rata-rata 62,85 sel/lapang pandang.

### 6.2 Saran

Penelitian lanjutan aplikasi pengobatan luka insisi pada *pet animal* menggunakan terapi salep ekstrak kulit buah naga kombinasi lidah buaya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anastasia. 2014. Uji Antioksidan Fraksi Kloroform Kulit Buah Naga Merah (*Hyalocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1- Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UNTAN*, 1(1).
- Anief, M. 1993. *Ilmu Meracik Obat: Teori dan Praktik*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 220-280
- Atik, N., dan A.R.J. Iwan. 2009. Perbedaan Efek Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) dengan Solusio Povidone Iodine Terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Kulit Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Kedokteran Bandung*, 41(2).
- Balqis, U., Rasmaidar., dan Marwiyah. 2014. Gambaran Histopatologis Penyembuhan Luka Bakar menggunakan Daun Kedondong (*Spondias dulcis* F.) dan Minyak Kelapa Pada Tikus Putih (*Rattus novvergicus*). *Jurnal Medica Veteriner*. 8(1) : 31-36
- Baraas, F. 2006. Kardio Molekuler, Radikal Bebas Disfungsi Endotel, Aterosklerosis, Antioksidan, Latihan Fisik dan Rehabilitasi Jantung. Yayasan Kardia Ikratama. Jakarta. 266-295.
- Broughton. B., E. Jeffrey, Janis, Christopher, and E. Attinger. 2006. Reconstructive Wound-Healing Supplement. (*Abstr*). 6-11.
- Brown. R.G., and T. Burns. 2005. Lecture Notes Dermatologi. Penerbit Erlangga. Jakarta. 109-112
- Burn B., C, 2006. The Epidemiology F Systemic Inflammatory Respon. *Intensive Care Med*: S 64-74
- Cahyono, B. 2009. Buku Terlengkap Sukses Bertanam Buah Naga. Pustaka Mina. Jakarta.
- Chrysman, S., Prahastuti, dan E. Evacuasiany. 2015. Perbandingan Efek Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica* Val) dan Madu (*Mel deporatum*) Terhadap Penyembuhan Luka Insisi pada mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster Jantan, *Jurnal Universitas Kristen Maranatha*.

- Choi, S.W., B.W. Son, Y.S. Son, Y.I. Park, S.K. Lee, and M.H. Chung. 2001. The Wound Healing Effect of a Glycoprotein Fraction Isolated from Aloe vera. *Br J Dermatol*, 145(4) : 535-545.
- Choo, W.S. 2011. Antioxidant Propertis of Two Spesies of Hylocereus Fruits. *Advances in Applied Science Research*, 2(3) : 418-425.
- Danu. M., dan D. Ishandono. 2012. The Effect of Aloe vera on Healing Process if Incision Wound. *Jurnal Plastik Rekonstruksi*, 82-87.
- Davis, R.H. 2000. The Conductor Orchestra Concept of Aloe vera. Aloe vera Inflammation.//<http://wholeaf.com>. [Januari 2011].
- Dewiyanti, A., H. Ratnawati, dan S. Puradisastra. 2009. Perbandingan Pengaruh Ozon Getah Jarak Cina (*Jatropha multifida*, L.) dan Povide Iodine 10% Terhadap Waktu Penyembuhan Luka pada Mencit Betina Galur Swiss Webster. *Jurnal Kedokteran Marantha*, 8(2) : 132-137.
- Ekaputra, E. 2013. Evolusi Manajemen Luka. Trans Info Media. Jakarta
- Elias, J.M., M. Margiotta., and D. Gabore. 2009. Sensitivity and Detection Efficiency of the Peroxidase Antiperoxidase (PAP), Avidin-Biotin Peroxidase Complex (ABC), and Peroxidase-Labeled Avidin-Biotin (LAB) Methods. *American Journal of Clinical Pathology*, 92(1) : 62-67
- Febram, B.P., I. Wientarsih., dan B.P. Priosoeryanto. 2010. Aktivitas Sediaan Salep Batang Pohon Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var *sapientum*) Dalam Proses Penyembuhan Luka Pada Mencit (*Mus musculus albinus*). *Majalah Obat Tradisional*, 15(3) : 137.
- Fuhrman B., and M. Aviram. 2002. Polyphenols and Flavonoids Protect LDL Against Atherogenic Modifications. In: Cadenas, E., and L. Packer. *Handbook of Antioxidant* 2nd edition. Marcel Dekker Inc. New York. 303-327.
- Gurtner, G.C. 2007. Wound Healing: Normal and Abnormal. In: Thorne Ch, R.W. Beasley, S.J. Aston, S.P. Bartlett, G.C. Gurtner, S.L. Spear. *Grabb and Smith's Plastic Surgery* 6th edition. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. 120: 15-22.

- Haris, R.A. 2009. Efektivitas Penggunaan Iodin 10%, Iodin 70%, Iodin 80%, dan NaCL dalam Percepatan Proses Penyembuhan Luka pada Punggung Tikus Jantan *Sprague Dawley* [Skripsi]. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Jaafar, R.A., A. Ridwan, and R. Vasudevan. 2009. Proximate Analysis of Dragon Fruit (*Hylecereus polyhizus*). *American Journal of Applied Sciences*, 6(7): 1341-1346.
- Jatnika dan Saptonongsih. 2009. Meraup Laba Darai Lidah Buaya. Agro Media Pustaka. Jakarta. 1-26.
- Jayadi, T dan A. Krismi. 2015. Perbedaan Indikator-Indikator Penyembuhan Luka Tikus Wistar Non Diabetik dan Diabetik Pada Pemberian Curcumin Topikal. *Berkala Ilmiah Kedokteran Duta Wacana*, 01(01).
- Junqueira, L.C., and J. Carneiro. 2005. *Basic Histology: text and atlas* 11<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill's Access Medicine. Brazil.
- Kartika, R.W. 2015. Perawatan Luka Kronis dengan Moerd Dressing Wound. *Care/Diabetic Center*, 42(7).
- Kartikaningtyas, A.T., Prayitno, dan S.P. Lastiany. 2015. Pengaruh Aplikasi Gel Ekstrak Kulit Citrus Sinensis Terhadap Epitelisasi pada Penyembuhan Luka Gingiva Tikus Sprague Dawley. *Jurnal Kedokteran Gigi Indonesia*, 1(1): 86-93.
- Kumalaningsih, S. 2016. *Antioksidan Alami penangkal Radikal Bebas*. Surabaya
- Kusriningrum. 2008. Dasar Perancangan Percobaan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Laila, D.L. 2016. Studi Ekspresi TGF- $\beta$  dan Ketebalan Epidermis Tikus Jantan Strain Wistas (*Rattus novergicus*) pada uka Insisi yang Diterapi Salep Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylcereus costaricensis*) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Nagori, B. D, and R. Solanki. 2011. Role Of Medicinal Plants In Wound Healing. *Research Journal Of Medicinal Plants*, 5 (4): 392-405



- Naibaho, O.H., V.Y.Y. Paulina, dan W. Weny. 2013. Pengaruh Basic Salep Terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstak Daun Kemangi (*omicum sanctum L.*) Pada Kulit Punggung Kelinci Yang Dibuat Infeksi *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmsi UNSTRAT*, 2(02).
- Nurliyana. R., Z.I. Syed, S.K. Mustapha, M.R. Aisyah, and R.K. Kamarul. 2010. Antioxidant Study of Pulps and Peels of Dragon Fruits: A Comparative Study. *International Food Research Journal*, 17: 367-375.
- O'Malley, B. 2005. *Clinical Anatomy and Physilogy of Exotic Species: Structure and Function of Mamals, Bird, Reptiles and Amphibians*. Elsevier Saunder Publisher. Germany.
- Panjuantiningrum. 2009. Ekstraksi dan Uji Kualitas Pigmen Antosianin pada kulit Buah Naga Merah (*Hyalocereus costaricensis*) [Skripsi]. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Perdanakusuma, D.S. 2007. Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka. Fakultas Kedokteran Universitas. Airlangga Surabaya.
- Potter, W.P. 2007. *Rats and Mice: Introduction and use In Reaserch*. Health Sciense Center For Education Resource Universit of Washington.
- Potter, P.A., and A.G. Perry. 2006. *Buku Ajar Fundamental Keperawatan: Konsep, Proses, dan Praktik*. Edisi 4. Alih Bahasa oleh Renata Komalasari, dkk. EGC. Jakarta.
- Pranata, R., S. Wahdaningsih, dan A. Fahrurroji. 2013. Uji Antioksidan Fraksi Kloroform Kulit Buah Naga Merah (*Hyalocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1- Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Universitas Tanjungpura*.
- Purwaningsih, D. 2009. Prospek Dan Peluang Usaha Pengolahan Produk *Aloe Vera L.* *Jurnal Universitas Negeri Yogyakarta*.
- Putra, A.T.W., W.F.W. Ade, dan M.Y. Hamidy. 2013. Tingkat Kepadatan Fibroblas Pada Luka Sayat Mencit Denan Pemberian Gel Lidah Buaya (*Aloe chinensis Baker*). *Jurnal Kedokteran Riau*.



- Putri, N.K.M., I.W.G. Gunawan, dan I.W. Suarsa. 2015. Aktifitas Antioksidan Antosianin dalam Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Super Merah (*Hyalocereus costaricensis*) dan Analisis Kadar Totalnya. *Jurnal Kimia Udayana*.
- Rahayu, F., W.F.W. Ade, dan W. Rahayu. 2013. Pengaruh Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (*Aloe chinensis Baker*) Terhadap Reepitalisasi Epidermis Pada Luka Sayat Kulit Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Kedokteran Riau*.
- Robbins, K.C. 2004. Buku Ajar Patologi (Ed 7). Buku Kedokteran EGC. Jakarta, 1: 99-103.
- Rukmanasari, R. 2010. Efek Ekstrak Kulit Terong Ungu (*Solanum Melongena L.*) Terhadap Kadar Ldl Dan Hdl Darah Tikus Putih [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Saati, E.A. 2010. Identifikasi dan Uji Kualitas Pigmen Kulit Buah Naga Merah (*Hyalocereus Costaricensis*) pada Beberapa Umur Simpan dengan Perbedaan jenis Pelarut. *Jurnal Gamma*, 6(1) : 25-34.
- Sabirin, I.P.R., A.M. Maskuen, dan B.S. Hernomo. 2013. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citripohal*) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imuno Ekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Padjajaran*, 45(4) :226-33.
- Schultz, G.S. 2007. The Physiology of Wound Bed Preparation. In Granick, M.S, R.L. Ganeli. *Surgical Wound Healing and Management*. Informa Healthcare. USA Inc. New York. 1-5.
- Seifried, H.E and Miller J.A. 2008. Antioxidant in Health and Disease. Nutrition in the Preventive and Treathment of Disease 2<sup>th</sup> ed. Elsevier Academic Press. USA.
- Setiabudi, A. 2005. Perbandingan Ekspresi Sel T CD4 di Jaringan Sekitar Luka dengan Tanpa Infiltasi Levobupivaksin pada Nyeri Pasca Incisi [Tesis]. Program Magister Ilmu Biomedik dan PPDS J Universitas Diponegoro Semarang.
- Shewood, L. 2011. Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem Edisi 6. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 83-85

- Sjamsuhidayat, R, dan W. Jong .2005. Buku Ajar Ilmu Bedah Edisi 2. EGC. Jakarta. 73-75.
- Soeroso, A. 2007. Sitokin. *Jurnal Oftalmologi Indonesia*, 5(3): 171-180.
- Soni, H., and A.K. Singhai. 2012. A Recent Update of Botanicals for Wound Healing Activity. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(7): 1-6.
- Stintzing, F.C., A. Scheibe, and R. Carle. 2002. Bettacyanin in Fruit from Redpurple Pitaya (*hylocereus Polyrhizus*). *Britton and Rose Food Chemistry*, 77: 101-106.
- Sudarto, Y. 1997. Lidah Buaya. Kanisius. Yogyakarta. 27-31
- Sudrajat, I. 2006. Perbandingan dan Hubungan Skor Histologis CD8+ dan Rasio skor histology CD4+/CD8+ di Sekitar Luka dengan dan tanpa Infiltrasi Levobupivakain pada Penyembuhan Luka Pasca Insisi. Universitas Diponegoro Semarang.
- Suriadi. 2004. Perawatan Luka Edisi 1. CV. Sagung Seto. Jakarta. 15-24
- Tamat. 2007. Pemanfaatan Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis*) Sebagai Sumber Antioksidan dan Pewarna Alami Pada Pembuatan Jelly. *Jurnal Teknologi Pangan*, (2): 68-85.
- Thakur, R., J. Nikita.,R. Pathak, and S.S. Sandhu. 2011. Practices in Wound Healing Studies of Plants. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/438056>. [24 February 2011].
- World Health Organization. 2005. *Dengue Fever Risk Asesment: Indonesia, February 2005*. Dalam Responding to Communicable Diases Following the Tsunami in South East Asia.
- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 22-28
- Wyati, E.L., S.H. Sutter, and L.A. Drake. 2001. Dermatological Pharmacology The Pharmacological Basis of Therapeutics 10<sup>th</sup> ed. Mc Graw Hill. New York, 1795-8.

- Xiao, H., Z. G, G. Wang, and T. Zhao.2013. The Possible Mechanism Underlying the impairment of HIF-1 $\alpha$  Pathway signaling in Hyperglycemia and the Beneficial effects of Certain Therapies. *Int J Med Sci*, 10 (10): 1412-1421.
- Zakaria, F.R., B. Irawan., Pramudya, S.M. Pramudya. dan Sanjaya. 2000. Intervensi Sayur dan Buah Pembawa Vitamin C dan E Meningkatkan Sistem Imun Populasi Buruh Pabrik di Bogor. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*, 11(2) : 21-27.



